

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LES PIROPLASMOSES BOVINES

LA « FIÈVRE DE LA CÔTE ORIENTALE » ET LA THEILÉRIOSE NORD-AFRICAINE

(ÉTUDE EXPÉRIMENTALE COMPARATIVE)

par Edm. SERGENT, A. DONATIEN, L. PARROT,
F. LESTOQUARD et E. PLANTUREUX.

Depuis les beaux travaux de A. Theiler sur la « fièvre de la côte orientale » (1), la connaissance de la répartition géographique des theilérioses bovines a considérablement progressé; d'après les informations récentes, ces piroplasmoses sévissent non seulement dans la presque totalité du continent africain, mais encore dans les Balkans et dans l'Asie méridionale, de l'Anatolie à l'Archipel malais. Cependant, la nature exacte des theilérioses des différents pays et les rapports de parenté qui existent entre elles restent assez obscurs encore. En particulier, l'identité spécifique des *Theileria* dont elles relèvent n'est pas, pour la plupart, pleinement établie.

Bien qu'à première vue la « fièvre de la côte » à *Theileria*

(1) A. THEILER, East coast fever. *Transv. agric. Jl.*, 2, 1904, p. 421 et *Rep. of the Director of veter. Reserch*, Pretoria, depuis 1904-1905.

parva (Theiler, 1904), de l'est et du sud de l'Afrique, apparaisse comme distincte de la theilériose à *Theileria dispar*, que nous avons décrite de l'Algérie (1), nous avons jugé nécessaire de les comparer expérimentalement l'une à l'autre. La comparaison nous a été possible grâce à l'obligeance des D^{rs} A. Theiler et P. J. du Toit, de Prétoria, qui ont bien voulu nous envoyer des tiques (*Rhipicephalus appendiculatus* Neumann) infectées par *Theileria parva*. Nous les en remercions cordialement.

Ces tiques — des larves et des nymphes —, prélevées en janvier 1926, par P. J. du Toit, sur deux animaux morts de la « fièvre de la côte », et arrivés à Alger au commencement de mars (2), nous ont permis, après leur mue, de transmettre la maladie d'abord à 2 bovins, en avril, puis à 4 autres, en juin. Plus tard, de juillet à septembre, nous avons pu encore contaminer 7 jeunes veaux avec des nymphes d'élevage provenant de la ponte des tiques reçues du Transvaal et que nous avons nourries nous-mêmes, au stade larvaire, sur les premiers bovins infectés. Au total, nous avons donné la « fièvre de la côte », par l'intermédiaire de *Rh. appendiculatus*, à 13 animaux. Nous avons, en outre, procédé à des essais de transmission directe par l'inoculation de sang et d'organes parasités. Certains de ces essais ont abouti à un résultat positif.

Ces diverses expériences nous ont fourni l'occasion d'observer de près l'évolution de la theilériose à *T. parva*, tant du point de vue clinique que du point de vue parasitologique, — d'apporter une contribution nouvelle à l'étude de la virulence du sang des animaux atteints, — et surtout de différencier définitivement la maladie sud-africaine de la theilériose nord-africaine à *T. dispar*.

Nous relatons ci-après l'essentiel de nos recherches (3).

(1) Edm. SERGENT, A. DONATIEN, L. PARROT, F. LESTOQUARD, E. PLANTUREUX et H. ROUGEBIEF, Études expérimentales sur les piroplasmoses d'Algérie, *Ces Annales*, 38, n° 4, avril 1924, p. 273-344. Les piroplasmoses bovines d'Algérie. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 2, n° 1, 1924, p. 1-146.

(2) Bien qu'ayant vécu deux étés consécutifs (austral et boréal) sans saison froide intermédiaire, les tiques reçues de l'Afrique du Sud ont pondu et la génération nouvelle a évolué, à Alger, dans des délais normaux.

Rhipicephalus appendiculatus N. n'existe pas en Algérie.

(3) Le détail des observations et expériences sera publié dans les *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, 5, n° 1, 1927.

I. — Theilériose sud-africaine expérimentale transmise par les tiques.

A. — EVOLUTION DE L'INFECTION.

Ainsi que nous venons de l'indiquer, des *Rh. appendiculatus* nymphes ou adultes, infectés soit au Transvaal, soit à Alger, ont été placés, en nombre variable (de 1 femelle à 30 nymphes), sur 13 bovins (1). Ces 13 bovins ont contracté la maladie (deux fois il a suffi d'une seule tique femelle pour contaminer l'hôte). 12 en sont morts; le treizième a été sacrifié le sixième jour. Chez tous les animaux, l'infection, *pure*, s'est traduite par des signes cliniques, anatomiques et parasitologiques qui, dans leur ensemble, correspondent exactement aux descriptions de A. Theiler, c'est-à-dire par un accès aigu, thermique et parasitaire.

a) ACCÈS THERMIQUE. — Après une période d'incubation de dix à treize jours (douze en moyenne), la température rectale des animaux s'est élevée rapidement à 40° et au-dessus et s'y est maintenue en plateau, coupé ou non de quelques rémittences jusqu'aux approches de la mort, laquelle fut précédée d'une courte phase d'hypothermie dans la moitié des cas. L'accès fébrile a duré ainsi de treize à vingt jours. Le maximum atteint par la température rectale a varié entre 40°8 et 41°8; il a dépassé 41° chez 12 animaux sur 13.

b) ACCÈS PARASITAIRE. — *Les corps en grenade de Th. parva* (*Plasmakugeln* de R. Koch, gamontes et agamontes de R. Gonder) ont été trouvés dans les ganglions lymphatiques superficiels ou dans les organes profonds (foie, rate) de onze à treize jours après la fixation des tiques (en moyenne : douze jours) [2]. Dans tous les cas, on a pu les déceler d'abord dans

(1) Pour obtenir l'infestation des bovins par les tiques, celles-ci ont été introduites dans de petits sacs de toile dont on a enveloppé les bourses des taurillons ou les trayons des génisses.

(2) Nous avons ponctionné les ganglions, le foie et la rate des animaux, pour la recherche des corps en grenade, dès la première poussée thermique. Cette ponction diagnostique a été, ensuite, souvent renouvelée.

les ganglions, puis dans la rate, puis enfin dans le foie. Chez 9 animaux, leur présence a été constatée dans le sang de la cir-

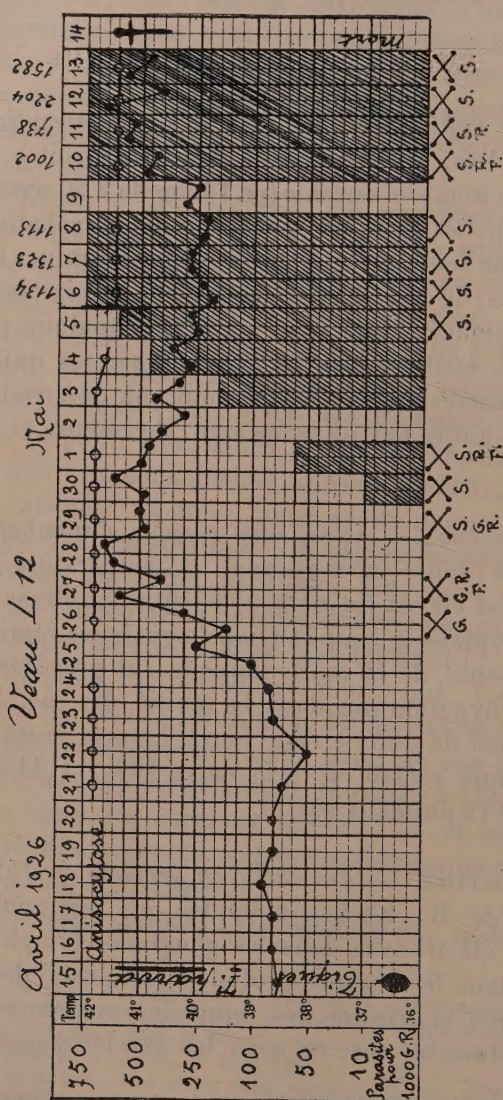


Fig. 4. — Veau infecté de theilériose sud-africaine par des tiques.

Les croix au-dessous du graphique indiquent la présence de corps en grenade : G, dans les ganglions, R, dans le foie ; S, dans la rate ; S, dans la circulation périphérique.

culacion périphérique, de deux à douze jours après le commencement de l'accès thermique. Ils y ont persisté pendant deux

à dix jours consécutifs, et en nombre d'autant plus grand que la maladie était plus avancée.

Les *corps intraglobulaires* (gamètes de R. Gonder) ont été vus pour la première fois, dans le sang périphérique, de douze à vingt et un jours (quinze en moyenne) après l'infestation par les tiques. Leur apparition a précédé le début de la fièvre une fois, a coïncidé avec celui-ci une fois et l'a suivi huit fois sur dix avec un retard de un à neuf jours (trois en moyenne); de même, elle a été le plus souvent postérieure à la constatation des corps en grenade dans les organes. Jusqu'à la mort, soit durant dix à seize jours (treize en moyenne), le nombre des formes intraglobulaires a augmenté progressivement et atteint, au maximum, de 350 à 5.400 pour 1.000 globules rouges, suivant les animaux. L'infection multiple d'un même globule rouge (jusqu'à 10 parasites par hématie) a été fréquemment observée.

c) ALTÉRATIONS SANGUINES. — La numération des hématies, effectuée chez un bovin à la fin de l'accès (la veille de la mort), a révélé de l'anémie : on ne comptait plus alors que 2 millions 640.000 globules rouges par millimètre cube de sang. Nous avons, en outre, noté de l'anisocytose cinq fois sur douze et de la polychromasie deux fois.

d) SYMPTÔMES CLINIQUES. — L'*hypertrophie des ganglions* correspondant à la région de fixation des tiques (ganglions inguinaux chez les jeunes taureaux, ganglions rétromammaires chez les génisses) fut le premier signe observé. Il s'agissait bien d'une adénite spécifique, car l'examen microscopique a toujours montré la présence de nombreux corps en grenade dans le suc ganglionnaire. Plus tard, on a constaté parfois de l'adénite des autres ganglions superficiels (précervicaux et préscapulaires).

Aucun symptôme général ne s'est manifesté jusqu'au dixième jour. A partir de ce moment, les animaux ont maigri peu à peu, malgré la conservation de l'appétit. Poil terne, hérissé, flancs creux. Vers le douzième-quatorzième jour, certains ont accusé de la *diarrhée*, de plus en plus liquide, striée de sang vers la fin (ulcération de l'intestin). Chez les mêmes malades, des *pétéchies* ont apparu sur les muqueuses, mais dans les tout derniers jours seulement. D'autres animaux ont été emportés,

au quatorzième-seizième jour, par une complication, l'*œdème pulmonaire*, et par l'asphyxie consécutive. Hors ces cas, la maladie a évolué en dix-huit à vingt jours.

e) ANATOMIE PATHOLOGIQUE. — A l'autopsie de 6 animaux, morts de la « fièvre de la côte » après quatorze à dix-neuf jours, et d'un veau abattu le sixième jour, nous avons relevé les lésions suivantes :

Les ganglions, toujours *hypertrophiés*, étaient surtout succulents et moins hémorragiques que dans le cas de la theilériose nord-africaine. La rate a été trouvée normale chez 4 animaux, y compris celui que nous avons sacrifié le sixième jour de la maladie (dans la theilériose nord-africaine, la rate est hypertrophiée dès le début de l'hyperthermie). Chez les 3 autres, l'organe était, au contraire, *doublé et même triplé de volume*. Nous avons noté constamment des *pétéchies sous-épicaudiques*, accompagnées ou non de larges ecchymoses sous-endocardiques, de l'*hypertrophie du foie* (moins ocre à la coupe, cependant, que dans la theilériose nord-africaine), de très nombreux *infarctus blancs*, de toutes dimensions, au niveau du rein, de l'indigestion du feuillet, des *ulcérations de la caillette* et, parfois, de l'intestin. Du côté du poumon, de l'*œdème*, plus ou moins généralisé, quatre fois sur six. En ce qui concerne les muscles, signes de viande fiévreuse (aspect cuit, terne et cassant) plutôt que signes d'anémie. Ni ictère, ni hémoglobinurie.

En somme, si certains cadavres d'animaux présentaient uniquement les lésions classiques de la « fièvre de la côte », d'autres ont montré aussi les lésions classiques de la theilériose nord-africaine et l'on peut dire qu'on observe tous les intermédiaires anatomiques, de l'une à l'autre. L'histologie pathologique ne révèle d'ailleurs pas de différence entre les deux maladies.

B. — ETUDE MORPHOLOGIQUE DU VIRUS.

Au sujet des *corps en grenade*, nous n'avons rien à ajouter aux descriptions de R. Koch, de A. Theiler et de R. Gonder. Pour les *corps intraglobulaires*, la numération des diverses

formes anaplasmoïdes, rondes, elliptiques, en bâtonnet et en croix, nous a donné les proportions suivantes :

Formes anaplasmoïdes.	2,2 p. 100
Formes rondes.	12,3
Formes elliptiques.	3,8
Formes en bâtonnet.	81,4
Formes en croix.	0,3

II. — Theilériose sud-africaine expérimentale transmise par le sang ou les organes.

Nous avons pu transmettre la theilériose sud-africaine à *T. parva* par l'inoculation directe de sang (1) ou d'organes infectés.

A. — TRANSMISSION PAR LE SANG (2).

Cinq expériences, portant sur 12 animaux, ont donné trois fois un résultat positif.

EXPÉRIENCE I. — a) 500 cent. cubes de sang, prélevés sur le veau L 12 (contaminé par des tiques) le *deuxième* jour de son accès, sont inoculés dans la cavité péritonéale du veau neuf L 13.

Résultat négatif.

b) 262 cent. cubes de sang, prélevés sur le même veau L 12 le *cinquième* jour de son accès, sont inoculés au veau neuf L 19 de la façon suivante : 250 cent. cubes sous la peau, 2 cent. cubes dans le derme et 10 cent. cubes dans les ganglions.

Résultat positif.

La température de ce veau monte au-dessus de 40° le *seizième* jour après l'inoculation. L'accès thermique dure quatre jours (maximum, 40°6). Les corps en grenade sont décelés dans les ganglions précuraux le *quinzième* jour, dans la rate le *dix-septième* jour. Des petites formes intraglobulaires apparaissent le *dix-huitième* jour dans le sang périphérique et y persistent pendant sept jours (maximum, 32 p. 1.000 globules rouges). Infection bénigne sans signes cliniques. Guérison (voir la courbe).

N. B. — Des corps en grenade ont été vus dans le sang du donneur L 12, pour la première fois, le jour même de l'inoculation du veau L 19, qui a contracté la « fièvre de la côte ».

(1) On sait que toutes les tentatives faites par les expérimentateurs sud-africains pour réaliser la transmission de *T. parva* par l'inoculation de sang ont échoué, d'où la notion classique de la non-virulence du sang dans la « fièvre de la côte ».

(2) Sang citraté.

EXPÉRIENCE II. — a) 100 cent. cubes de sang, prélevés sur le veau L 23 (contaminé par des tiques) le premier jour de son accès, sont inoculés dans la jugulaire du veau neuf L 25.

Résultat négatif.

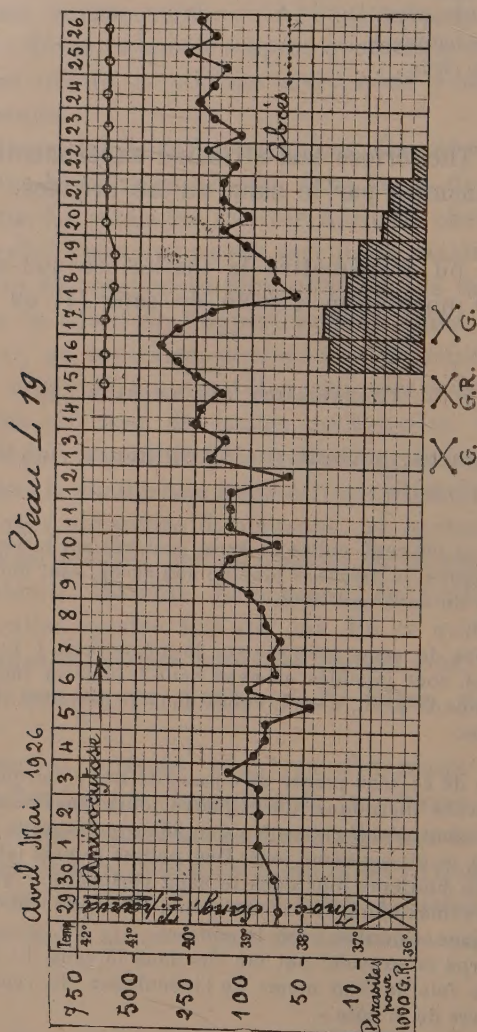


FIG. 2. — Veau infecté de theilériose sud-africaine par l'inoculation de sang.

b) 250 cent. cubes de sang prélevés sur le même veau L 23, le troisième jour de son accès, sont inoculés à 4 veaux neufs qui reçoivent :

Le veau L 30, 100 cent. cubes sous la peau.

Le veau L 28, 100 cent. cubes dans la jugulaire.

Le veau L 31, 40 cent. cubes dans les ganglions.

Le veau L 35, 10 cent. cubes dans le derme.

Résultat négatif.

c) 165 cent. cubes de sang prélevés encore sur le veau L 23, le *cinquième* jour de son accès, sont inoculés comme suit au veau neuf D 30 : 60 cent. cubes sous la peau, 60 cent. cubes dans le péritoine, 40 cent. cubes dans les ganglions et 5 cent. cubes dans le derme.

Résultat positif.

La température du veau D 30 s'élève au-dessus de 40° le quatorzième jour. L'accès thermique dure seize jours (maximum, 41°8). Les corps en grenade sont décelés dans la rate le seizième jour. Les petites formes intraglobulaires apparaissent le dix-neuvième jour et persistent dans le sang périphérique pendant vingt-deux jours (maximum, 500 p. 1.000 globules rouges). Anisocytose très marquée pendant huit jours. Infection bénigne sans signes cliniques. Guérison.

N. B. — Des corps en grenade ont été vus dans le sang du donneur L 23, pour la première fois, la veille du jour de l'inoculation du veau D 30, qui a contracté la « fièvre de la côte ».

EXPÉRIENCE III. — 245 cent. cubes de sang du veau L 21 (contaminé par des tiques), prélevés le *cinquième* jour de son accès, sont inoculés au veau neuf D 28 : 100 cent. cubes sous la peau, 100 cent. cubes dans le péritoine, 40 cent. cubes dans les ganglions, 5 cent. cubes dans le derme.

Résultat négatif.

EXPÉRIENCE IV. — 304 cent. cubes de sang provenant du veau L 3 (contaminé par des tiques), et prélevés le *deuxième* jour de l'accès de theilériose sud-africaine, sont inoculés au veau neuf D 35 : 300 cent. cubes dans le péritoine, 4 cent. cubes dans le derme.

Résultat négatif.

N. B. — Le sang du donneur L 3 n'a jamais montré de corps en grenade.

EXPÉRIENCE V. — 505 cent. cubes de sang provenant du veau L 40 (contaminé par des tiques), et prélevés le *seizième* jour de l'accès, sont inoculés par moitié aux veaux neufs L 56 et L 57 : 250 cent. cubes sous la peau et 2 c. c. 5 dans le derme.

L 56 = résultat positif.

L 57 = résultat négatif.

La température du veau L 56 s'élève au-dessus de 40° le dix-neuvième jour et atteint jusqu'à 41°5. Les corps en grenade sont décelés dans les ganglions et dans la rate le dix-neuvième jour. Les petites formes intraglobulaires apparaissent le vingt-quatrième jour, avant-veille de la mort de l'animal, qui succombe à une pneumonie intercurrente.

N. B. — Le sang du donneur L 40 a contenu des corps en grenade presque continuellement, du quatrième au dix-neuvième jour de la maladie inclus.

B. — TRANSMISSION PAR LES ORGANES.

Cinq expériences, portant sur 18 animaux, ont donné trois fois un résultat positif.

EXPÉRIENCE I. — a) 125 cent. cubes du produit de broyage, dans l'eau salée physiologique, d'un ganglion inguinal du veau L 12, contaminé par des tiques, sont inoculés sous la peau du veau neuf D 27.

Résultat positif.

b) 125 cent. cubes du même produit de broyage sont inoculés dans le péritoine du veau neuf L 4.

Résultat positif.

La température du veau D 27 monte au-dessus de 40° le dix-septième jour. Accès thermique de quatorze jours, avec six jours de rémittence (maximum 40°8). Corps en grenade dans les ganglions précuraux le seizième jour, dans la rate et le foie le dix-neuvième jour, dans le sang le seizième jour. Les petites formes intraglobulaires apparaissent le vingt et unième jour et persistent pendant treize jours (maximum : 212 p. 1.000 globules rouges). Anisocytose marquée pendant sept jours. Guérison. (V. la courbe.)

La température du veau L 4 dépasse 40° à partir du dix-septième jour. Accès thermique de neuf jours, avec trois jours de rémittence (maximum : 40°5). Corps en grenade dans les ganglions le dix-neuvième jour. Les petites formes intraglobulaires apparaissent le vingt-deuxième jour après l'inoculation et persistent pendant six jours (maximum, 14 p. 1.000 globules rouges). Guérison.

EXPÉRIENCE II. — Le veau L 20, infecté de theilériose sud-africaine par des tiques, est sacrifié le sixième jour de son accès. Un fragment de rate et un ganglion (en tout 250 grammes) sont prélevés aussitôt sur le cadavre, broyés dans l'eau salée physiologique et inoculés à 4 veaux neufs de la façon suivante :

Veau L 11 : 10 cent. cubes de la suspension sous la peau.

Veau D 31 : 10 cent. cubes de la suspension sous la peau.

Veau L 13 : 250 cent. cubes de la suspension dans le péritoine.

Veau L 2 : 250 cent. cubes de la suspension dans le péritoine.

Résultat négatif.

EXPÉRIENCE III. — Le ganglion précural et le ganglion préscapulaire droits des veaux L 4 et L 19, atteints de « fièvre de la côte » (contamination par des tiques), sont prélevés par opération sur le vivant, broyés et inoculés aux veaux neufs L 1 (175 cent. cubes sous la peau, 10 cent. cubes dans les ganglions) et L 5 (175 cent. cubes sous la peau). *Résultat négatif.*

EXPÉRIENCE IV. — Un ganglion inguinal, un ganglion précural et un ganglion préscapulaire sont prélevés chirurgicalement sur le veau L 23, contaminé par des tiques. Après broyage, on inocule 7 animaux neufs :

Le veau L 32 reçoit 50 cent. cubes dans le péritoine. *Résultat négatif.*

Le veau L 29 reçoit 100 cent. cubes dans le péritoine. *Résultat positif.*

Le veau L 26 reçoit 50 cent. cubes sous la peau. *Résultat négatif.*

Le veau L 27 reçoit 50 cent. cubes sous la peau. *Résultat négatif.*

Le veau L 33 reçoit 50 cent. cubes sous la peau. *Résultat négatif.*

Le veau L 16 reçoit 50 cent. cubes sous la peau. *Résultat négatif.*

Le veau L 10 reçoit 50 cent. cubes sous la peau. *Résultat négatif.*

Chez le veau L 29, la température monte au-dessus de 40° le douzième jour. L'accès thermique dure dix-sept jours avec cinq jours de rémittence (maximum 41°5). Les corps en grenade sont décelés dans les ganglions, la rate et le foie le seizième jour. Les formes intraglobulaires apparaissent

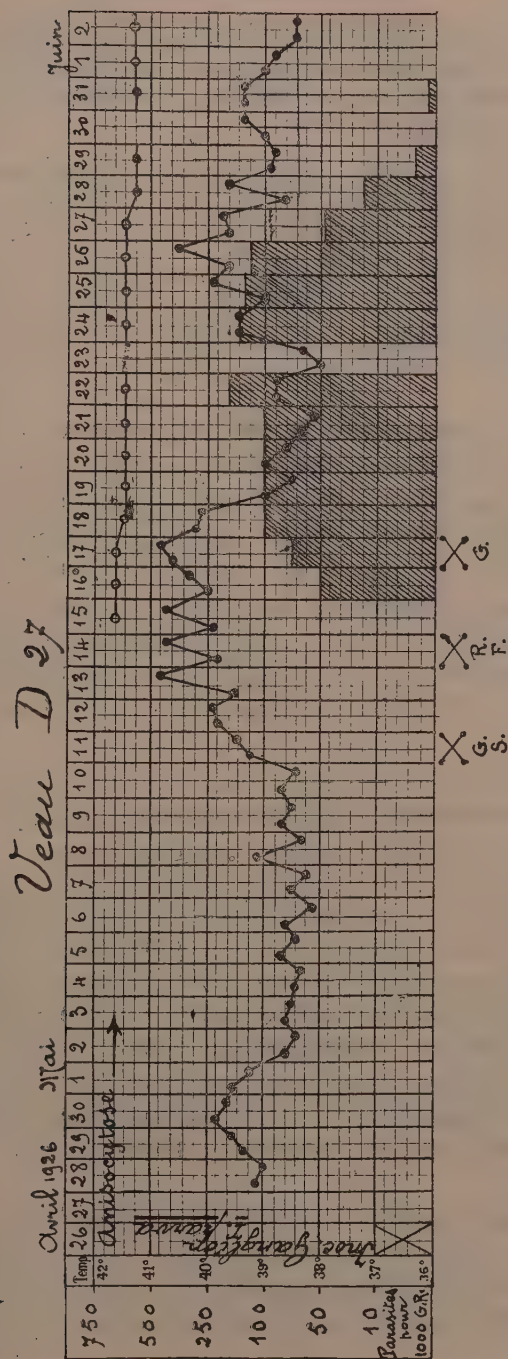


Fig. 3. — Veau infecté de theilériose sud-africaine par l'inoculation de ganglion.

dans le sang périphérique le seizième jour et y persistent pendant treize jours (maximum : 2.500 p. 1.000 globules rouges). L'animal meurt le dix-huitième jour de l'accès thermique. L'issue fatale paraît avoir été provoquée ou tout au moins favorisée par la suppuration de la plaie opératoire consécutive à l'ablation d'un ganglion lymphatique.

EXPÉRIENCE V. — 45 grammes du ganglion précrural gauche du veau précédent L 29 sont broyés dans 240 cent. cubes d'eau salée physiologique. On inocule 80 cent. cubes de la suspension dans le péritoine à chacun des veaux neufs, L 18, L 37 et L 16. Résultat négatif.

N. B. — Dans toutes ces expériences, les fragments d'organes employés aux inoculations et prélevés pendant la vie, au cours de l'accès de « fièvre de la côte », ou aussitôt après la mort de l'animal (expérience II), contenaient de nombreux corps en grenade.

En résumé, *l'inoculation de sang* de bovins atteints de theilériose sud-africaine a infecté 3 animaux sur 12 et *l'inoculation de tissus ganglionnaire ou splénique*, 3 animaux sur 18. La maladie ainsi conférée a bien été causée par *T. parva*; l'examen microscopique du sang et des suc ganglionnaire, splénique et hépatique ne laissait aucun doute à ce sujet. Au surplus, on a pu s'assurer que l'un de ces animaux (le veau D 30) avait acquis l'immunité contre la theilériose sud-africaine, mais non contre la theilériose nord-africaine à *T. dispar* (V. plus loin).

C. — DESCRIPTION DE L'INFECTION DONNÉE PAR L'INOCULATION DE SANG OU D'ORGANES.

a) ACCÈS THERMIQUE. — L'accès thermique s'est manifesté après une incubation de douze à dix-neuf jours (seize en moyenne) et a duré de quatre à dix-sept jours (douze en moyenne). Des rémittences de température ont été notées trois fois sur 5 cas. Le maximum thermométrique atteint a varié de 40°5 à 41°8; il a dépassé 41° trois fois sur 6 cas. Un veau est mort de pneumonie intercurrente le huitième jour de l'accès, un autre de septicémie secondaire le dix-huitième jour.

b) ACCÈS PARASITAIRE. — Les *corps en grenade* ont été trouvés dans les ganglions, la rate ou le foie, du quatorzième au dix-neuvième jour. Cette constatation a précédé, accompagné ou suivi le début de l'ascension thermique, suivant les cas.

Les *corps intraglobulaires* sont apparus dans la circulation périphérique de seize à vingt-quatre jours (vingt en moyenne) après l'inoculation, en retard de deux à cinq jours sur la fièvre. Elles y ont persisté de six à vingt-deux jours (douze en moyenne). Leur nombre maximum varia de 14 à 2.500 p. 1.000 globules rouges.

c) ALTÉRATIONS SANGUINES. — Dans un cas au moins (veau D 27), la maladie expérimentale a déterminé de l'*anémie*, réduisant le nombre des globules rouges de 5 millions à 2 millions 500.000 par millimètre cube de sang en dix jours. Trois fois sur six, on a noté de l'anisocytose.

d) SYMPTÔMES CLINIQUES. — Les symptômes cliniques ont été toujours à peu près nuls (sauf chez le veau L 29, atteint d'infection bactérienne post-opératoire) et l'accès aurait pu passer inaperçu sans le contrôle du thermomètre. Cependant, un signe précoce a été constamment observé : l'hypertrophie des ganglions lymphatiques superficiels correspondant au point d'inoculation des matières virulentes.

e) ANATOMIE PATHOLOGIQUE. — Les lésions relevées à l'autopsie du veau L 29 ne différaient pas, dans l'ensemble, de celles que nous avons signalées chez les bovins infectés par les tiques. La rate de cet animal n'était pas hypertrophiée.

En somme, l'infection que nous avons obtenue par l'inoculation de sang ou d'organes s'est montrée beaucoup plus bénigne que l'infection transmise par les tiques (1 mort, d'ailleurs d'origine douteuse, sur 6, au lieu de 12 morts sur 12). D'autre part, dans la maladie donnée par les Ixodes, l'incubation est plus courte (douze jours au lieu de seize), l'accès plus long, la présence des corps en grenade et des corps intraglobulaires généralement constatée plus tôt et le parasitisme sanguin plus intense.

III. — Comparaison entre la Theilériose sud-africaine et la Theilériose nord-africaine.

Les caractéristiques de la theilériose à *T. parva* étant ainsi rappelées et précisées, il devient facile de la comparer à la theilériose nord-africaine à *T. dispar*, du point de vue de l'évolution clinique et du point de vue de la morphologie des parasites. L'épreuve des réinoculations croisées de Laveran et Mesnil et celle du xénodiagnostic nous fourniront en outre les éléments d'une différenciation décisive.

A. — EVOLUTION.

Comme nous l'avons montré dans nos précédents mémoires (1), la theilériose nord-africaine à *T. dispar*, naturelle ou transmise par l'inoculation de sang ou d'organes, se traduit par un accès aigu survenant après une incubation de seize à dix-sept jours et qui dure cinq jours en moyenne. Les corps en grenade sont généralement décelés dans le foie le dix-huitième jour qui suit l'inoculation infectante ; les corps intraglobulaires apparaissent vers le vingt et unième jour et leur nombre maximum varie de 1 à plus de 2.000 p. 1.000 globules rouges. On note toujours, ou à peu près, des lésions sanguines : anémie, anisocytose, polychromatophilie, de l'hyperleucocytose, parfois de l'ictère et de l'hématurie vraie. Les symptômes cliniques varient depuis une poussée éphémère de température jusqu'à un état typhique grave. Dans ce dernier cas, on trouve régulièrement des pétéchies conjonctivales, des suffusions hémorragiques dans tous les organes, particulièrement sur le cœur, des infarctus rouges et blancs dans les reins. La splénomégalie est précoce et constante. La proportion des morts atteint 20 p. 100 au laboratoire.

En rapprochant ces données de celles que nous a fournies l'infection expérimentale à *T. parva* conférée par l'inoculation de sang ou d'organes, on ne constate guère que les différences

1) *Loc. cit.*

suivantes : l'anémie est, en général, moins marquée dans la theilériose sud-africaine ; la splénomégalie manquait dans l'unique cas de mort constaté. C'est dire que la clinique et l'anatomie pathologique seules ne permettent pas de distinguer la theilériose nord-africaine, naturelle ou expérimentale, de la theilériose sud-africaine transmise par l'inoculation de sang ou d'organes. Il en va de même d'ailleurs de la theilériose sud-africaine transmise par les tiques, réserve faite de sa plus grande gravité. Cependant, l'hypertrophie de la rate est moins constante et moins accentuée dans la theilériose sud-africaine pure, transmise par les tiques (nous rappelons que nous l'avons observée trois fois sur 6 animaux), que dans la theilériose nord-africaine.

Enfin, nous n'avons observé ni ictère, ni hématurie chez les animaux infectés par *T. parva*.

B. — MORPHOLOGIE DES PARASITES.

Les *corps en grenade* ne donnent lieu qu'à la remarque suivante : on les trouve plutôt dans les ganglions lymphatiques que dans le foie, quand il s'agit de *T. parva* ; c'est l'inverse pour *T. dispar*.

En ce qui concerne les *corps intraglobulaires*, la proportion des formes en bâtonnet est beaucoup plus considérable dans le cas de *T. parva* que dans le cas de *T. dispar*, ainsi que le montre le tableau suivant :

Formes	<i>T. parva</i>	<i>T. dispar</i>
Anaplasmoïdes	2,2	0,7
Rondes	12,3	50
Elliptiques	3,8	41,6
En bâtonnet	81,4	7,7
En croix	0,3	0,2

La différence est si évidente qu'elle permet à un observateur tant soit peu exercé de poser, d'après un simple étalement de sang, le diagnostic de l'une ou de l'autre infection.

D'autre part, les formes intraglobulaires de *T. parva* sont généralement plus riches en chromatine que celles de *T. dispar*. Par exemple, le noyau des éléments en bâtonnet de *T. parva*

s'allonge le plus souvent en flamme de bougie, tandis que, chez *T. dispar*, il rappelle mieux l'aspect ponctiforme d'une tête d'épingle.

C. — EPREUVE DES RÉINOCULATIONS CROISÉES
DE LAVERAN ET MESNIL.

Pour réaliser cette épreuve d'immunité, nous avons combiné les inoculations par le sang ou par les tiques, en ce qui concerne *T. parva*, avec les inoculations par le sang, en ce qui concerne *T. dispar*.

1° THEILERIA PARVA IMMUNISE-T-ELLE CONTRE THEILERIA DISPAR?
Nous en avons jugé d'après trois expériences.

EXPÉRIENCE I. — Le veau L 4, infecté de *T. parva* par l'inoculation de ganglion, est réinoculé, deux mois et demi après la fin de son accès, sous la peau, avec du sang et du suc ganglionnaire provenant d'un animal atteint de theilériose à *T. dispar*. Deux témoins neufs reçoivent la même inoculation. *Le veau L 4 contracte la theilériose nord-africaine* comme les deux témoins.

EXPÉRIENCE II. — Le veau D 27, infecté de *T. parva* par l'inoculation de ganglion, est réinoculé trois mois après la fin de son accès de theilériose sud-africaine, sous la peau, avec du sang et du suc ganglionnaire provenant d'un veau atteint de theilériose à *T. dispar*, en même temps que deux témoins neufs. *Le veau D 27 contracte la theilériose nord-africaine* comme les deux témoins.

EXPÉRIENCE III. — Le veau D 30, infecté de *T. parva* par inoculation de sang, est réinoculé quatre mois et trois semaines après la fin de son accès sous la peau, avec du sang provenant d'un veau atteint de theilériose à *T. dispar*., en même temps que deux témoins neufs. *Le veau D 30 contracte la theilériose nord-africaine* comme les témoins.

Ainsi, des animaux ayant terminé leur accès de theilériose sud-africaine depuis deux à cinq mois environ se sont montrés réceptifs à l'égard de la theilériose nord-africaine. *T. parva* n'immunise pas contre *T. dispar*.

2° THEILERIA DISPAR IMMUNISE-T-ELLE CONTRE THEILERIA PARVA?
L'épreuve a porté sur 5 animaux guéris de la theilériose nord-africaine.

EXPÉRIENCE I. — Les veaux L 10 et L 16 reçoivent des tiques infectées de *T. parva*, trois mois environ après la fin de leur accès de theilériose à *T.*

dispar, en même temps qu'un témoin neuf. *L 10* et *L 16* contractent la theilériose sud-africaine et y succombent comme le témoin.

EXPÉRIENCE II. — Le veau *L 38* reçoit des tiques infectées de *T. parva*, deux mois et huit jours après la fin de son accès de theilériose à *T. dispar*, en même temps qu'un témoin neuf. Le veau *L 38* contracte la theilériose sud-africaine et en meurt, comme le témoin.

EXPÉRIENCE III. — Les veaux *L 3* et *L 4*, reçoivent, un mois environ après la fin de leur accès de theilériose à *T. dispar*, des tiques infectées de *T. parva*. Ces deux bovins contractent normalement la theilériose sud-africaine et en meurent.

Ainsi, des animaux guéris d'un accès de theilériose nord-africaine depuis un à trois mois se sont montrés réceptifs à l'égard de la theilériose sud-africaine. *T. dispar* n'immunise pas contre *T. parva*.

Nous avons eu soin, bien entendu, de vérifier que les bovins ayant survécu à un accès de theilériose à *T. parva* étaient réfractaires à la réinoculation du même virus par les tiques :

a) Le veau *D 30*, infecté de *T. parva* par l'inoculation de sang, reçoit, deux mois plus tard, des nymphes de *Rh. appendiculatus*. Résultat négatif. Des nymphes du même lot, placées au même moment sur 3 veaux neufs témoins, leur donnent la « fièvre de la côte ».

b) Le veau *D 27*, infecté de *T. parva* par l'inoculation de ganglion, reçoit, quatre mois plus tard, des nymphes de *Rh. appendiculatus*. Résultat négatif. Des nymphes du même lot, placées au même moment sur deux veaux témoins, leur donnent la « fièvre de la côte ».

On peut donc conclure avec certitude que, *T. parva* ne vaccinant pas contre *T. dispar* et *T. dispar* ne vaccinant pas contre *T. parva*, ces deux parasites doivent être considérés comme deux espèces distinctes.

D. — EPREUVE DU XÉNODIAGNOSTIC.

L'épreuve du xénodiagnostic, de Brumpt, appuie l'affirmation précédente : des larves de *Rh. appendiculatus*, nourries sur des bovins infectés par *T. dispar*, ne transmettent pas la theilériose nord-africaine, à l'état de nymphes (2 expériences). Des larves du même lot, placées dans les mêmes conditions et nourries sur des bovins infectés par *T. parva*, transmettent régulièrement, au contraire, la theilériose sud-africaine.

Conclusions.

1° *Theileria dispar*, Institut Pasteur d'Algérie 1924, agent de la theilériose nord-africaine, constitue une espèce distincte de *Theileria parva* (Theiler, 1904), agent de la « fièvre de la côte orientale ». La preuve décisive en est donnée par l'absence d'immunité croisée entre les deux maladies. Le xénodiagnostic confirme cette notion.

2° Un des caractères différentiels invoqués jusqu'ici pour séparer la theilériose nord-africaine de la theilériose sud-africaine, à savoir la virulence du sang dans la première et sa non-virulence dans la seconde, a perdu de sa valeur probante. La transmission de l'infection à *T. parva* par l'inoculation du sang, bien que moins facile à obtenir que la transmission de *T. dispar*, a pu être réalisée, en effet, 3 fois sur 12 essais, dans nos laboratoires. L'infection ainsi donnée est remarquablement bénigne.

3° La theilériose sud-africaine détermine parfois de l'anémie et de la splénomégalie. Ces lésions sont cependant moins constantes et moins accusées que dans la theilériose nord-africaine.

4° *Theileria parva* et *Theileria dispar* diffèrent nettement par la proportion relative des diverses formes parasitaires du sang périphérique des animaux infectés : il y a prédominance des éléments en bâtonnet dans le cas de *T. parva* et prédominance des formes rondes et ovalaires dans le cas de *T. dispar*.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

LE TRYPANOSOME DE LA DOURINE TRAVERSE-T-IL LA PEAU OU LES MUQUEUSES SAINES ?

par E. IWANOW et F. MESNIL.

(Laboratoire de Protozoologie de l'Institut Pasteur.)

On discute encore la question de la pénétration des trypanosomes à travers les muqueuses intactes. Pour certains auteurs, tels que Laveran et Mesnil, dans leur Traité, la possibilité de cette pénétration n'existe que pour le trypanosome de la dourine, *Tryp. equiperdum*. D'autres, par exemple Muijzert à qui l'on doit les travaux les plus récents, affirment que les espèces *brucei*, *evansi*, *gambiense*, *rhodesiense*, peuvent aussi traverser les muqueuses intactes, mais que cette faculté de pénétration est plus grande chez le *Tryp. equiperdum*. Nattan-Larrier est le plus affirmatif de tous : d'après lui, le *Tryp. equiperdum* peut traverser non seulement les muqueuses intactes de l'œil, de la bouche, du vagin, du rectum, mais aussi l'épiderme intact. L'un de nous (E. Iwanow) a été amené à des conclusions tout à fait différentes.

Cet auteur affirme que le *Tryp. equiperdum*, déposé sur l'épiderme ou sur les muqueuses, ne provoque une infection qu'en cas de rupture de l'intégrité des téguments. Selon lui, il suffit d'une égratignure, d'une fissure des plus insignifiantes, souvent difficile à constater à l'œil nu, pour que le trypanosome traverse la muqueuse ou la peau. Ces écorchures, ou bien existent avant l'expérience, ou bien sont occasionnées par les manipulations que nécessite l'expérience, ou encore sont produites après l'expérience, soit par des piqûres dues à la paille ou au foin, soit par des grattages avec les pattes, alors que les parasites n'ont pas encore perdu leur vitalité. Il en résulte que si l'on prend des précautions pour éviter piqûres et écorchures, si l'on s'assure à la loupe de l'intégrité des muqueuses et de la

peau, si l'on effectue les injections à l'aide de sondes souples, bien graissées, d'un calibre convenable, la possibilité d'une infection par les trypanosomes déposés tombe, d'après Iwanow, à zéro.

Cet auteur explique les résultats différents des siens, enregistrés par d'autres expérimentateurs, par l'absence ou l'insuffisance des précautions minutieuses énumérées ci-dessus. Il voit une confirmation de ses résultats expérimentaux dans les faits connus relatifs au pourcentage des contaminations dans la dourine, et aussi dans des considérations théoriques sur le rôle des téguments dans la protection de l'organisme contre les microbes pathogènes qui l'entourent.

Pour essayer encore une fois de résoudre expérimentalement cette question, qui présente non seulement un intérêt théorique, mais encore une certaine importance pratique, nous avons décidé d'exécuter en commun une série d'expériences en prenant toutes les précautions nécessaires.

Nous avons employé le *Tryp. equiperdum*, conservé sur souris ou cobayes, depuis plusieurs années, au laboratoire de l'un de nous qui le tenait de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Les expériences ont été exécutées sur des lapins, des cobayes et des souris. On prélevait le sang des souris de passage au dernier jour de leur vie, quand les trypanosomes s'y trouvaient en grande quantité. Ce sang, pris à la queue ou dans le cœur, était dilué dans l'eau physiologique citratée, de façon à ce que le mélange ait une coloration rouge intense et que le nombre des trypanosomes par goutte soit abondant.

Avant de soumettre les animaux à l'expérience, on examinait à la loupe leur peau, leurs organes sexuels externes, où l'on voit souvent des traces de morsures, surtout chez des lapins. Tout animal présentant quelque blessure était exclu des expériences. Après ce triage, on isolait les animaux dans des cages où l'on ne mettait ni paille, ni foin.

Dans les cages à lapins et cobayes, la litière consistait en sciure de bois fine et la nourriture en luzerne fraîche. Les souris étaient placées dans des bocaux de verre à lourds couvercles en grillage, et on les nourrissait de grains de sarrasin minutieusement triés, dont on éliminait les grains d'avoine et d'orge.

Jamais on ne commençait une expérience avant un séjour d'une quinzaine, dans les conditions d'isolement ci-dessus indiquées, des animaux. De cette façon, les blessures qui avaient pu échapper à l'examen se cicatrisaient. Si l'expérience était négative, le même animal (souris, cobaye dans un cas) pouvait servir à nouveau.

EXPÉRIENCE I du 11 juin 1926. — A. Quelques gouttes de sang citraté sont déposées sur le dos de *souris* dont les poils ont été coupés ras; on l'étale à la surface de la peau. Aucune des 9 (n^{os} 11-19) souris ainsi traitées ne s'infecte. Une dixième, dont la peau a été écorchée jusqu'au sang avec une aiguille juste au moment de l'expérience, sert de témoin : elle s'infecte au quatrième jour et meurt le sixième jour.

B. Le sang citraté est introduit à l'aide d'une sonde très fine, enduite de vaseline, dans le vagin des *souris*. Les 9 souris (n^{os} 1-9) ainsi inoculées restent indemnes; une dixième, dont la muqueuse du vagin a été égratignée au sang avec une aiguille, montre des trypanosomes dans la circulation le cinquième jour et meurt le septième.

C. Le sang citraté trypanosomé est déposé à l'aide d'une pipette sur la muqueuse de l'œil droit, en même temps qu'on tire la peau de la paupière inférieure vers le bas avec une pince. On fait ensuite subir à cette paupière un mouvement de va-et-vient pour que la goutte se propage partout. De 9 souris ainsi traitées (n^{os} 21-29), 8 restent indemnes. La souris n^o 26 montre des trypanosomes le quatrième jour et succombe le sixième : il avait été remarqué que la pince avait déterminé une légère écorchure sous la paupière. Chez une 10^e souris, servant de témoin, la muqueuse de l'œil a été blessée jusqu'au sang avec une aiguille au moment de l'expérience; cette souris, infectée le troisième jour, succombe le cinquième.

EXPÉRIENCE II du 1^{er} juillet 1926. — A. *Essais d'infection par le vagin* : 1^o 4 *lapins* sont inoculés dans le vagin à l'aide d'une sonde d'un diamètre de 4 millimètres, enduite de vaseline; la muqueuse du vagin d'un des lapins (n^o 4) est écorchée avec le scarificateur, mais pas jusqu'au sang. Aucun des animaux ne s'infecte : l'examen direct du sang ainsi que son inoculation à des souris sont négatifs;

2^o 2 *cobayes* sont inoculés avec la sonde précédente; on remarque que son calibre est trop fort et qu'elle est trop grossière pour les cobayes; la difficulté d'introduction est surtout grande avec le cobaye n^o 2 et une déchirure paraît probable. En fait, le cobaye n^o 1 ne s'infecte pas; le cobaye n^o 2 montre des trypanosomes le douzième jour et il succombe le quarante-sixième jour;

3^o Les *souris* 1-9 de l'expérience I sont reprises et inoculées à nouveau dans le vagin. Deux d'entre elles (n^{os} 3 et 8) s'infectent (trypanosomes dans le sang le quatrième jour, mort le sixième jour). Il a été remarqué que la tête et le dos de la souris n^o 8 sont couverts d'eczéma et que la peau est fissurée; la souris a pu transporter le virus avec la langue, car on note que les souris lèchent l'excédent de sang citraté qui s'échappe du vagin.

B. *Essais d'infection par les muqueuses oculaires*. — L'expérience a porté sur les 17 *souris* survivantes de l'expérience I, A et C; on tend la peau sous la

paupière inférieure à l'aide des doigts et non d'une pince. Aucune souris ne s'infecte : la souris de passage inoculée sous la peau, qui sert de témoin, succombe en moins de six jours.

EXPÉRIENCE III du 12 août 1926. — On recommence une expérience avec les souris 1, 2, 4, 5, 6, 7 et 9, qui ont survécu aux expériences I et II. Toutes ces souris sont inoculées dans le vagin à l'aide d'une sonde très fine. La souris n° 9, qui a eu la muqueuse du vagin écorchée jusqu'au sang, sert de contrôle; son sang montre des trypanosomes dès le troisième jour et elle succombe au cinquième. Les autres souris restent indemnes.

EXPÉRIENCE IV du 24 août 1926. — On introduit du sang citraté trypanosomé dans le vagin des cobayes n° 3 (1 de l'expérience II), 4, 5, 6, 7, 8, 9 et 10, en se servant de la même sonde fine que pour les souris. La muqueuse vaginale du cobaye n° 9 est écorchée légèrement; celle du cobaye n° 10 plus profondément. Les cobayes 3 à 8 restent indemnes (examen direct du sang et inoculation aux souris négatifs); les cobayes 9 et 10 s'infectent et succombent en trente-deux, respectivement trente-cinq jours.

EXPÉRIENCE V du 7 octobre 1926. — On essaie de contaminer par la peau, comme dans l'expérience I, les souris 18 et 19 qui ont un eczéma très prononcé, la souris 28 qui a eczéma léger et la souris 4 dont la peau paraît saine. Les souris 18 et 19 s'infectent (mort le cinquième jour); les deux autres restent indemnes.

Résumons ces expériences :

Des 9 souris ayant reçu les trypanosomes sur la peau saine, dont les poils étaient coupés ras, aucune n'a été infectée (exp. n° 1).

Des 26 souris, qui ont reçu les trypanosomes sur la muqueuse oculaire, 1 seule s'est infectée et nous l'avions prévu en raison d'une écorchure faite avec la pince qui tenait la paupière inférieure.

Le cas du cobaye n° 2 (exp. II) a aussi été prévu, car nous avons remarqué que la sonde employée était trop grosse pour le vagin de l'animal et avait dû léser cet organe.

Le cas de la souris n° 8 (exp. II) a encore été prévu; il s'explique par une lésion de l'épiderme à la suite d'une maladie de peau. La souris a léché l'excédent de sang citraté s'échappant du vagin et le museau eczémateux de l'animal a pu ainsi absorber le virus. Nous avons prouvé l'exactitude de cette explication par l'expérience V qui a porté sur 3 souris inégalement atteintes d'eczéma et une 4^e à peau saine, servant de témoin. Les 2 souris les plus malades ont seules été infectées.

Quant à la souris n° 3 de l'expérience II, nous pensons que

l'infection s'est faite par des fissures des mamelles, dues sans doute aux dents des petits au cours de l'allaitement; les trypanosomes échappés du vagin ont pu être portés sur les mamelles soit par la mère elle-même en se léchant, soit par l'intermédiaire des petits.

Il faut noter que, dans les essais de contamination par la peau ou par le vagin, il est difficile d'éviter une contamination par la bouche.

Les résultats de nos expériences confirment donc ceux que Iwanow a publiés antérieurement. Ils montrent que les divergences d'opinion sur cette question tiennent à ce qu'il y a des expériences qui n'ont pas été exécutées avec les précautions minutieuses que nous avons indiquées ci-dessus et qui sont d'une importance primordiale.

Il faut remarquer la facilité qu'il y a à léser le vagin en introduisant la sonde, particulièrement chez le cobaye, où l'entrée du vagin est si étroite que, pour y introduire une sonde, il faut déployer un effort. Il est nécessaire, au préalable, d'abaisser très délicatement, avec un doigt enduit de vaseline, le repli qui ferme l'entrée du vagin.

Si toutes les précautions indiquées sont prises, il n'y a pas d'infections ou bien elles sont exceptionnelles, car il est presque impossible d'empêcher les animaux de s'écorcher en se grattant.

En résumé, sur 71 essais de contamination, nous n'avons eu qu'un cas positif que nous n'avions pas prévu.

CONCLUSIONS.

Le *Trypanosoma equiperdum* — de même que les autres espèces voisines de trypanosomes — ne possède pas le pouvoir de transpercer les téguments d'animaux, car il ne traverse ni une peau saine ni une muqueuse non lésée. Cette constatation n'est nullement en contradiction avec ce que l'on sait de la propagation de la dourine par le coït, car il n'en reste pas moins vrai que, dans les conditions naturelles, la contamination est facile, puisque, pour qu'elle ait lieu, il suffit d'une lésion infime. Or, un des symptômes principaux de la dourine est l'œdème des organes génitaux externes; on conçoit donc que ces organes gonflés — qui laissent échapper facilement

les trypanosomes de leur sérosité — déterminent aisément des lésions des parties de l'animal neuf qui viennent à leur contact lors du coït.

Une application minutieuse et systématique de mesures pour éviter, dans les haras et les stations de monte, les lésions des organes génitaux des juments et des étalons pendant le coït peut faire baisser considérablement le pourcentage de propagation de la dourine.

Dans les régions où sévit la dourine, le moyen le plus rationnel pour arrêter la propagation de cette maladie est de remplacer, dans les haras et les stations de monte, le coït naturel par la fécondation artificielle des juments.

ÉTUDE DES TEIGNES DU CHEVAL ET DE L'IMMUNITÉ DANS LES TEIGNES EXPÉRIMENTALES

par BROCC-ROUSSEU, Ach. URBAIN et J. BAROTTE.

Introduction.

Le but de cette étude est de résumer toute une série de recherches qui ont été effectuées sur les teignes équine, ainsi que sur les phénomènes plus généraux d'immunité au cours des dermatophyties expérimentales, tant à l'Institut Pasteur qu'au Laboratoire de recherches vétérinaires de l'armée, du mois d'octobre 1925 au mois de décembre 1926.

Ces recherches ont consisté d'abord dans la détermination systématique des parasites des teignes du cheval, dont près de 150 prélèvements nous ont été adressés pendant ce laps de temps, en provenance des corps de troupe ou établissements militaires les plus divers de France, d'Algérie, ou de l'Armée du Rhin.

Partant des souches ainsi isolées, nous avons essayé d'abord leur virulence vis-à-vis du cobaye, puis vérifié, en cherchant à les préciser, les phénomènes d'immunité déjà constatés chez cet animal à la suite d'une première inoculation.

Les dermatophyties paraissant, par beaucoup de leurs symptômes soit au cours de leur évolution spontanée, soit au cours des inoculations expérimentales, réaliser le type même des affections entraînant une « immunité locale » des téguments déjà infectés une première fois, nous nous sommes efforcés de préciser également différentes manifestations de cette immunité, en particulier :

Existence, ou non, d'anticorps spécifiques ;

Phénomènes de sensibilisation : réactions allergiques à la trichophytine ;

Essais de production d'immunité artificielle (vaccination) par la trichophytine ;

Electivité cutanée des teignes animales quelle que soit leur voie d'introduction dans l'organisme, fait important qui vient à l'appui de cette constatation qu'une immunité réellement appréciable vis-à-vis des teignes ne peut se manifester qu'à la suite d'une infection de la peau.

Ces directives générales nous ont guidés au cours de toutes les séries de recherches expérimentales qui ont porté sur un nombre considérable de cobayes. Elles justifient le plan même de ce travail :

I. Détermination systématique des parasites des teignes du cheval. Caractères différentiels généraux (microscopiques et culturels) des espèces isolées.

II. Inoculations expérimentales.

III. Immunité dans les teignes expérimentales.

IV. Anticorps dans les teignes expérimentales.

V. Réactions allergiques à la trichophytine, leur spécificité.

VI. Essais de vaccination par la trichophytine.

VII. Electivité cutanée des teignes animales.

I. — Détermination systématique des parasites des teignes du cheval (octobre 1925 à décembre 1926.)

Les études les plus importantes déjà publiées sur les teignes du cheval se rapportent à des épizooties constatées sur des effectifs militaires. Elles s'attachent surtout à préciser l'allure générale de l'épizootie, sa symptomatologie et l'étude mycologique des parasites.

On connaît actuellement comme agents des teignes équine des parasites appartenant aux genres : *Microsporum*, *Trichophyton* et *Achorion*.

Sabouraud trouvait en 1892-1894, dans une épidémie équine, un parasite analogue au *Microsporum lanosum* du chien, et Bodin décrivait, en 1898, un *Microsporum* dans une épizootie d'herpès du poulain : le *Microsporum equinum*.

Plusieurs espèces de *Trichophyton* ont été isolées de lésions équine, sans que, malheureusement, on puisse établir pour la

plupart de ces espèces une modalité symptomatique typique. Ce sont :

Tr. gypseum, Sabouraud, 1893.

Tr. équinum, Matruchot et Dassonville, 1898.

Tr. gypseum granulosum, Sabouraud, 1908 (épizootie de Pecus, à Sedan).

Divers *Trichophyton faviformes* trouvés par Bodin, chez l'âne et le cheval, 1896; *Tr. verrucosum*, Sabouraud, 1910, et *Tr. discoides* (épizootie de Fayet à Marseille) complètent la série des espèces connues chez le cheval.

Achorion gypseum Bodin, l'agent du favus, reste une rareté. Depuis la description de Suis en 1908, chez le poulain, il n'a été trouvé à nouveau qu'une seule fois.

Aucune donnée épidémiologique générale n'a pu être établie à propos des teignes, parce qu'aucun observateur n'était à même de recueillir une documentation assez abondante. Nous avons pu commencer cette étude grâce à l'envoi systématique de prélèvements au Laboratoire militaire de recherches vétérinaires chaque fois qu'un cas de teigne est constaté dans un corps de troupe.

A. — EXAMEN MICROSCOPIQUE ET CULTURES.

Nous avons pratiqué 140 examens de prélèvements provenant des régions les plus diverses. Pour chaque prélèvement reçu, nous faisons d'abord l'examen microscopique des poils, après éclaircissement au chloral-lactophénol; puis, on ensemence en série sur gélose glucosée Sabouraud.

Les poils de chaque envoi sont d'abord examinés avec une forte loupe pour rechercher ceux que leur aspect désigne plus particulièrement comme suspects d'être parasités; ceux-ci sont placés par groupes d'une dizaine entre lame et lamelle pour éclaircissement. L'examen est renouvelé trois fois de suite, s'il est nécessaire. Nous ne considérons comme examen direct négatif que celui qui n'a rien montré après ces trois essais. Voici les résultats globaux obtenus :

Nombre de prélèvements examinés	140
Examens microscopiques positifs	76
Examens microscopiques négatifs	64
Cultures positives avec isolement du parasite	92

Nous voyons donc que, dans 16 cas où l'examen microscopique fut négatif, nous avons pourtant obtenu une culture positive. Inversement, il peut arriver qu'à la suite d'examens nettement positifs l'isolement du parasite soit impossible à obtenir par suite de contaminations secondaires trop abondantes, envahissant le milieu avant le développement de la culture recherchée.

B. — DIFFICULTÉS PRATIQUES. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.

La constatation que des examens négatifs peuvent être suivis d'une culture positive nous a conduits à rechercher quelles étaient les chances approximatives d'obtenir une culture pure de teigne, en partant de prélèvements forcément aussi contaminés de germes de toute nature que le sont des poils récoltés directement sur l'animal.

L'envoi par le vétérinaire-major Capdebille d'un grand nombre de prélèvements très soignés, provenant d'un même cheval, sur différentes parties du corps, nous fournira des exemples de ce qu'on peut attendre des examens.

CAS OÙ L'EXAMEN MICROSCOPIQUE A RÉVÉLÉ DES POILS PARASITES.

Origine : Ferme hippique de Cuperly ; matricule 6215.

Examen microscopique : *Microsporium equinum*.

Prélèvements : Neuf plaques de teigne de régions diverses du corps.

Ensemencements : Trois par plaque, sur gélose Sabouraud, soit 27 ensemencements (portions radiculaires choisies à la loupe).

Résultat : 10 cultures : 7 pures ; 2 souillées récupérables ; 1 souillée non récupérable.

Trois plaques ont donné d'emblée des cultures souillées impossibles à identifier. Elles provenaient de la croupe et du dos, parties du corps le plus exposées aux poussières.

CAS OÙ L'EXAMEN MICROSCOPIQUE NE RÉVÈLE PAS DE POILS PARASITES.

Origine : Ferme hippique de Cuperly ; matricule 6227.

Examen microscopique : Négatif, mais flore abondante et variée d'espèces n'ayant pas de rapport avec les teignes.

Prélèvements : Sept plaques de diverses régions du corps.

Ensemencements : Trois par échantillon, soit au total 21.

Résultat : 19 résultats négatifs ou souillés ; 1 culture de *Microsporum* non récupérable ; 1 culture de *Microsporum* qu'on a pu isoler.

CAS D'UNE ÉPIZOOTIE DE MICROSPORUM : Etablissements hippiques de Suippes (octobre 1926).

Sur 33 échantillons reçus, presque simultanément, nous avons trouvé :

20 examens microscopiques positifs.

25 cultures pures de *Microsporum*.

7 examens négatifs, ayant donné 7 cultures positives.

2 échantillons parasités n'ayant pas donné de culture.

Ces trois exemples montrent :

La possibilité d'échecs de culture, même en cas d'examen microscopique nettement positif.

L'utilité, surtout dans le cas d'un examen négatif, de faire des ensemencements systématiques suffisamment nombreux.

L'impossibilité de tirer une conclusion d'examens microscopiques négatifs, même répétés.

En somme, si une culture ou un examen positif permettent de conclure à l'existence de la teigne, par contre, on n'a pas le droit de tirer une conclusion d'un examen ou d'une culture négatifs au point de vue parasitaire.

Sans doute, on objectera que la plaque de teigne est un élément clinique d'appréciation dont il faut tenir compte ; mais nous avons été à même d'observer des plaques ayant fait l'objet d'un diagnostic douteux, et qui, manifestement, étaient d'un tout autre ordre que la teigne, malgré leur ressemblance.

Donc, dans tous les cas cliniques douteux, il ne peut y avoir de certitude de diagnostic qu'avec l'aide du laboratoire.

C. — DÉTERMINATION DES ESPÈCES ISOLÉES.

A l'exception du *Tr. granulosum* et du *Tr. discoides*, nous avons retrouvé toutes les espèces déjà connues comme agents des teignes chez le cheval. Nous avons aussi trouvé un nouveau cas de favus.

<i>Microsporium equinum</i>	79 cas.
<i>Trichophyton gypseum</i>	1 cas.
<i>Trichophyton equinum</i>	10 cas.
<i>Trichophyton verrucosum</i>	1 cas.
<i>Achorion gypseum</i>	1 cas.

Ce diagnostic précis de 92 cas s'applique à 140 prélèvements qui nous ont été envoyés, ce qui fait une proportion de 65,71 p. 100. Nous pouvons donc considérer que lorsque le diagnostic clinique est douteux, les examens de laboratoire peuvent lever ces doutes dans la proportion indiquée, ce qui nous paraît être un résultat très appréciable (1).

Répartition par armes.

ARMES D'ORIGINE	ENVOIS REÇUS	<i>Microsporium equinum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Trichophyton equinum</i>	<i>Trichophyton verrucosum</i>	<i>Achorion gypseum</i>
Cavalerie	43	18	1	3		
Artillerie	25	13		3		
Train	4	3				
Remonte	68	45		4	1	1
	140	79	1	10	1	1

Provenance.

Microsporium equinum : Douai, Melun, Meaux, Suippes, Faverney, Metz, Armée du Rhin, Trèves, Haguenau, Mulhouse, Caen, Le Mans, Saumur, Orléans, Chateaufert, Saint-Etienne, Montpellier, Oran, Tlemcen.

Trichophyton gypseum : Saint-Omer.

Trichophyton equinum : Faverney, Mâcon, Chaumont, Haguenau, Bonn, Carcassonne.

Trichophyton verrucosum : Le Busson.

Achorion gypseum : Suippes.

(1) L'identification des souches que nous avons isolées au laboratoire a été confirmée à l'hôpital Saint-Louis, au laboratoire du Professeur Sabouraud, à qui nous adressons nos remerciements pour son très large et aimable accueil.

Age des animaux atteints.

ESPÈCES	5 ANS et moins	6 ANS	7 ANS	8 ANS	10 ANS	11 ANS	14 ANS	15 ANS	TOTAUX
<i>Microsporium equinum</i> . .	64	2	3	5	2	1	1	1	79
<i>Trichophyton gypseum</i> . .					1				1
<i>Trichophyton equinum</i> . .	7	1			2				10
<i>Trichophyton verrucosum</i> .	1								1
<i>Achorion gypseum</i>	1								1
	73	3	3	5	5	1	1	1	92

Au point de vue statistique, ces chiffres ont besoin de subir une correction pour avoir une valeur épidémiologique. En effet, certaines unités envoient de très nombreux prélèvements d'une même épizootie, alors que d'autres se bornent à envoyer un seul échantillon. Il est bien évident que ce seul examen a une valeur égale à celle de tous ceux faits pour les examens d'une même écurie. Ils doivent compter tous les deux, chacun pour un foyer parasitaire.

En partant de ce principe, voici les résultats que nous obtenons alors (voir tableau page 520).

Nous voyons donc que les types cliniques des teignes se répartissent dans cette étude de la façon suivante :

<i>Microsporioses</i>	72,5 p. 100
<i>Trichophyties</i>	25 p. 100
<i>Favus</i>	2,5 p. 100

La lecture de ces chiffres permet de faire les remarques suivantes :

1° Les microsporioses sont, de beaucoup, les plus fréquentes des teignes. Le terme générique de trichophyties, appliqué aux teignes du cheval, est donc inexact dans les trois quarts des cas.

2° En général, les prélèvements provenant d'une même unité donnent le même parasite ; ce fait était à prévoir. Cependant, nous voyons que, en moins d'un mois, le 47^e R. A. D. envoie,

	<i>Microsporium equinum</i>	<i>Trichophyton equinum</i>	<i>Trichophyton gypseum</i>	<i>Trichophyton verrucosum</i>	<i>Achorion gypseum</i>
<i>Année 1925.</i>					
23 ^e dragons	1				
6 ^e chasseurs			1		
18 ^e chasseurs	1				
14 ^e dragons	1				
4 ^e dragons		1			
8 ^e chasseurs	1				
Saumur	1				
62 ^e R. A. D.	1				
21 ^e R. A. D.	1				
43 ^e R. A. D.	1				
12 ^e R. A. D.	1				
130 ^e d'artillerie		1			
31 ^e d'artillerie	1				
15 ^e R. A. C.	1				
6 ^e T. E. M.	1				
33 ^e T. E. M.	1				
Suippes	1				
Piémont	1				
Cuperly	1				1
Le Busson				1	
Chateaufert	1				
Faverney	1				
	18	2	1	1	1
<i>Année 1926.</i>					
2 ^e spahis	1				
8 ^e chasseurs	1				
13 ^e dragons	1				
5 ^e cuirassiers	1				
18 ^e chasseurs		1			
12 ^e dragons		1			
Saumur	1				
47 ^e R. A. D.	1	1			
Artillerie Oran	1				
16 ^e d'artillerie	1				
129 ^e R. A. L.		1			
Suippes	1				
Cuperly	1				
Piémont	1				
Faverney		1			
Mâcon		1			
	11	6			
Total des deux années	29	8	1	1	1
Pourcentage	72,5	20	2 1/2	2 1/2	2 1/2

la première fois du *Microsporum*, et la seconde du *Tr. equinum*. L'annexe de Faverney, qui avait du *Microsporum* en 1925, a du *Tr. equinum* en 1926, ainsi que le dépôt de Mâcon qui recrute pour cette annexe. Les fermes de Suippes n'ont donné jusqu'ici que du *Microsporum*, et un cas d'*Achorion*.

La flore parasitaire qui s'est installée dans une unité, où elle trouve des conditions favorables de vie, et probablement aussi des milieux propices au développement de ses formes de résistance, a peu de chances de changer, à moins d'apports massifs d'animaux ou de fourrages qui portent une nouvelle espèce. On s'explique donc que la persistance d'une espèce donnée soit d'autant plus assurée que les locaux sont plus occupés d'une manière permanente par l'élément milieu animal ou végétal. Par contre, une condition favorable au changement de la flore serait réalisée par le vide des locaux, assurant l'action des antiseptiques naturels ou artificiels sur le mycélium ou les spores de ces espèces pathogènes.

3° Comme chez l'homme, les teignes du cheval sont surtout des affections du jeune âge. Environ 80 p. 100 des échantillons que nous avons reçus proviennent de chevaux de cinq ans et au-dessous.

Une question vient de suite à l'esprit : on sait que chez l'homme nombre de teignes disparaissent spontanément avec la puberté. En est-il de même chez le cheval ?

Il est très difficile de répondre à cette question car nous manquons de précisions sur l'âge de la puberté chez le cheval. L'habitude prise de castrer les poulains ne permet même pas de la poser pour les mâles, sauf pour les étalons. Elle pourrait se résoudre pour les juments. Tout en réservant ce point très intéressant, nous pensons que la fréquence des teignes chez les jeunes tient surtout aux conditions de promiscuité que nous leur imposons, et toute la prophylaxie de ces maladies doit prendre cette considération comme point de départ.

CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS GÉNÉRAUX DES ESPÈCES ISOLÉES (CARACTÈRES MICROSCOPIQUES ET CULTURAUX).

Les espèces que nous avons isolées appartiennent aux trois genres : *Microsporum*, *Trichophyton* et *Achorion*.

<i>Microsporium</i>		<i>Microsporium equinum</i> .
<i>Trichophyton</i> .	{	Microïde. <i>Trichophyton gypseum</i> .
		Mégaspores. { A culture duveteuse. <i>Trichophyton equinum</i> .
		{ A culture faviforme. <i>Trichophyton verrucosum</i> .
<i>Achorion</i>		<i>Achorion gypseum</i> .

Nous allons donner de ces espèces, non pas une description complète qu'on trouvera dans les traités classiques, mais l'ensemble des caractères généraux qui permettent, dans la pratique, leur identification.

Microsporium equinum, Bodin, 1898.

La description en a été donnée d'une façon parfaite par Bodin, dès 1896. Le *parasite*, après éclaircissement du poil, se présente en spores arrondies ou légèrement polyédriques par pression réciproque; de petite taille, 2 à 3 μ ; juxtaposées sans dessiner aucune figure régulière ni aucun chapelet, et constituant autour du poil une gaine qui l'entoure, sans le pénétrer. Des variations alternatives de mise au point donnent nettement l'impression de « gaine ou cage microsporique », ce qui fait dire au professeur Sabouraud que le poil ressemble « à une baguette de verre enduite de colle, et qu'on aurait roulée dans du sable fin ».

Les filaments mycéliens sont plus difficiles à voir. Ils sont situés dans le poil même, suivant son axe longitudinal, serrés les uns contre les autres et divisés, par cloisonnement transversal, en segments rectangulaires très allongés (2 μ à 2,5 μ de large).

La culture sur gélose est très adhérente au milieu, car le mycélium pousse dans sa partie superficielle. Elle est presque glabre ou à peine duveteuse, d'un duvet court et rare. Peu à peu se forment des plissements radiés profonds qui, au centre, se contournent, se chiffonnent, sans faire saillie très apparente à la surface du milieu. Par vieillissement, elle brunit, puis se couvre d'un duvet blanc très léger qui lui fait perdre ses caractères primitifs.

Sur pomme de terre, le champignon donne une large strie couverte d'une sorte de pâte de carton, d'un jaune plus ou moins brunâtre. C'est une culture « cartonneuse ».

Toutes les cultures que nous avons obtenues étaient rigoureusement glabres, à peine duvetées; d'assez nombreux spécimens présentaient, d'emblée, une pigmentation jaune envahissant le milieu, plutôt en surface qu'en profondeur.

Trichophyton gypseum, Sabouraud, 1893.

Parasite endo-ectothrix microïde; spores de 5 à 6 μ de diamètre, en chapelets plus ou moins longs. La gaine qui entoure le poil ressemble beaucoup, à première vue, à celle que l'on rencontre sur les poils parasités par le *Microsporum*; mais un examen plus attentif permet de retrouver des chaînes de spores et des filaments mycéliens externes qui n'existent pas dans la cage microsporique. Parfois, la gaine qui entoure la base du poil peut renfermer des spores inégales. L'intérieur du poil présente également des filaments mycéliens cloisonnés.

Culture d'un blanc de plâtre avec centre surélevé, duveteux, entouré d'une large auréole poudreuse qui s'irradie en rayons divergents d'aspect plâtreux granité, tout à fait spécial.

Sur pomme de terre, traînée blanchâtre en couche épaisse, légèrement duveteuse.

Trichophyton equinum, Matruchot et Dassonville, 1898.

Parasite endo-ectothrix, mégaspore, à culture duveteuse. Le poil atteint renferme, vers sa partie inférieure, de nombreuses spores mycéliennes de 4 à 8 μ , disposées en chaînettes formées par la fragmentation du mycélium. Autour du poil, on observe aussi des filaments, mais en moins grand nombre. Ces filaments sont ramifiés, cloisonnés, et se dissocient en spores.

La culture sur milieu d'épreuve donne des colonies circulaires blanches, floconneuses, pouvant atteindre plusieurs centimètres de diamètre. En vieillissant, la surface reste blanche, mais la partie en contact avec le substratum devient jaune, puis rouge acajou. Cette pigmentation envahit le milieu en profondeur.

Sur pomme de terre, traînée humide d'un jaune d'ocre permettant de différencier facilement le parasite.

Trichophyton verrucosum, Bodin, 1896.

Parasite ectothrix mégaspore. Poils parasités rares.

Culture lente et pauvre, à surface contournée, verruqueuse, ocre jaunâtre, véritable petite verrue enfoncée dans la gélose sous-jacente. Par vieillissement, on assiste à l'apparition d'un duvet blanchâtre, extrêmement court, très discret, laissant au centre une partie acuminée d'un jaune ocre permanent.

Achorion gypsum, Bodin, 1907.

Le parasite se compose d'articles subcubiques de diamètre très variable. L'irrégularité des éléments parasitaires, d'une chaîne à l'autre, est frappante. Dans d'autres cas, le poil est intact, mais la gaine folliculaire est traversée, en tous sens, par des filaments rubanés, tortueux ou rectilignes, et par des chaînes d'éléments moniliformes, courts, articulés.

Sur gélose, la culture a un développement circulaire, souvent ovalaire, centrée par une touffe d'un court duvet blanchâtre; le reste est d'aspect plâtreux, de couleur café au lait, avec liséré blanchâtre périphérique lorsque la culture vieillit. Culture pléomorphique à grand duvet, abondante et assez précoce.

Sur pomme de terre, large traînée blanche, duveteuse, ouatée.

En résumé, nous voyons que l'examen microscopique seul d'un poil peut laisser des doutes à un observateur non spécialisé. C'est ainsi que les *Trichophyton ectothrix microïdes*, avec leurs spores de dimensions très analogues à celles des *Microsporum*, formant également une gaine parasitaire, peuvent être confondus avec ces derniers. La disposition en chapelets, constante pour les *Trichophyton*, et toujours visible en quelque partie de la gaine parasitaire, peut échapper à un examen un peu rapide.

Le diagnostic est plus aisé avec les *Trichophyton ectothrix mégasporés*, par suite de la taille et de l'irrégularité de leurs spores.

Le poil *favique* peut se distinguer du poil trichophytique parce qu'il est peu envahi par les filaments sporulés, tandis que le second est, en général, rempli par eux (à l'exception des *Trichophyton* à culture faviforme).

Dans le favus équin que nous avons eu à examiner, nous n'avons pas trouvé la disposition spéciale des filaments sporulés se divisant par tri ou tétratomie, pour former des pinceaux de trois ou quatre filaments, dénommés couramment « torses faviques » et qui sont donnés comme un caractère différentiel classique important.

Par contre, si l'examen microscopique peut donner lieu à des erreurs de détermination, l'aspect des cultures, très différent pour chacun des types que nous avons isolés, ne permet pas de confusion possible. Ces cultures, pour qui les a vues une fois, sont typiques sur gélose. Un ensemencement confirmatif sur pomme de terre est indiqué dans tous les cas douteux.

II. — Inoculations expérimentales.

Nous avons pratiqué au laboratoire un très grand nombre d'inoculations expérimentales des teignes.

Ces inoculations avaient pour but :

1° Soit de rechercher la virulence des souches que nous obtenions par ensemencements sur gélose Sabouraud, des prélèvements reçus des régiments, en vue de leur détermination.

2° Soit pour réaliser des infections expérimentales en vue de la vérification des phénomènes d'immunité, de l'étude de cette immunité, *in vivo* ou *in vitro*, ou de quelques essais de vaccination par la trichophytine.

CHOIX DE L'ANIMAL.

Après avoir essayé comme animal réceptif le *lapin* et le *cobaye*, nous avons abandonné le premier, tant en raison de son prix élevé et de son peu de maniabilité que du feutrage fin et abondant de son poil qui s'épile difficilement et gêne l'observation des lésions si le point d'inoculation n'est pas largement dégagé.

C'est donc au cobaye que nous nous sommes par la suite exclusivement adressés, l'expérience nous confirmant entièrement les indications de Sabouraud que « le cobaye semble, « pour les dermatophyties, l'animal de choix tant par la facilité qu'il donne aux manipulations que par la fidélité de ses « réactions positives ».

TECHNIQUES D'INOCULATIONS.

Sabouraud, dans son traité magistral des teignes (1910), conseille la technique suivante :

« Une surface grande comme une pièce de 2 francs est tondue « aux ciseaux entre les deux épaules de l'animal. Sur cette « surface, on pratique, en triangle, trois piqûres avec la pointe « d'un scarificateur. Et, dans chaque petit trou, on introduit « une minuscule parcelle de la culture à inoculer. »

Cazalbou, dans une « Etude tinéologique » très détaillée, datant de 1913, préconise cet autre procédé :

« La zone cutanée choisie étant rasée de près, avec de fins « ciseaux à histologie tenus presque parallèlement à la peau, « on sectionne un lambeau épidermique dont la forme est « fatalement celle d'un triangle adhérent par sa base; on soulève le sommet libre; on dispose une parcelle de culture « sous le lambeau et ce dernier est rabattu sur elle. On opère « à la loupe et on peut ainsi ne blesser les tissus que très légèrement. »

Pour toutes les recherches qui font l'objet du présent travail, nous avons utilisé un autre procédé d'inoculation :

Les poils du cobaye étaient largement coupés, aussi ras que possible, ou incomplètement épilés sur la plus grande partie de la région dorsale. Le choix de la région à dégager ainsi était guidé par le double souci de nous rapprocher autant que possible de la région située entre les deux épaules que préconisait Sabouraud (et qui est effectivement la moins accessible aux traumatismes et grattages de l'animal), et de choisir une région blanche ou de pelage clair, dont la peau peu pigmentée permet de mieux apprécier les réactions inflammatoires.

Sur la région ainsi dégagée, on pratique avec un scarificateur ou la pointe d'un bistouri trois ou quatre longues scarifications

parallèles entamant légèrement le derme jusqu'à ce qu'il y ait apparition, presque immédiate, d'un suintement lymphatique assez abondant et même de quelques fines gouttelettes de sang.

La culture est appliquée aussi largement que possible tout le long de ces scarifications avec un fort fil de platine rigide, légèrement aplati en spatule à son extrémité.

Nous relatons ci-après les quelques observations que nous a suggérées la pratique de ce procédé :

1° Au lieu de couper les poils très ras avec des ciseaux, opération qui est assez longue lorsqu'on a affaire à des cobayes à longs poils, à poils frisés, à peau très fine, ou remuants, nous avons mis à profit l'adhérence relativement faible du poil de ces animaux pour pratiquer l'épilation de la région à dégager. Il suffit de saisir les poils par petites touffes et de les enlever par tractions effectuées dans le sens du poil. Cette épilation forcément incomplète dégage suffisamment la région pour rendre la pratique des scarifications et l'observation ultérieure des lésions faciles; elle ménage un nombre suffisant de poils pour que le parasite trouve un milieu favorable à son évolution; d'ailleurs, les poils repoussent assez vite sur toute la région épilée pour être envahie par le parasite qui gagne aussi les poils sains de la périphérie de la zone dégagée.

2° Il ne nous a pas paru que la profondeur des scarifications ait une influence sur le bon résultat de l'inoculation. Il semble même préférable d'entamer nettement le derme; si une minime hémorragie capillaire vient agglutiner la culture déposée entre les lèvres de la scarification, cette circonstance est plutôt favorable au bon développement ultérieur du parasite dans le milieu alcalin que constitue le sérum exsudé.

3° Toutes les cultures ne s'appliquent pas avec la même facilité sur les scarifications. Les cultures plâtreuses (*Trichophyton gypsum*, *Achorion gypsum*) se détachent facilement de la gélose; leur prélèvement avec une petite spatule de platine et leur application entre les lèvres des scarifications sont faciles; leur adhérence est bonne.

Par contre, les cultures duveteuses du *Trichophyton equinum*, ainsi que celles du *Microsporum*, font littéralement partie de la gélose sous-jacente dont on est obligé d'enlever la couche superficielle avec la culture. Pour ces dernières, nous avons

essayé soit d'écraser sur les scarifications mêmes de petits fragments de gélose-culture, soit d'effectuer au préalable le broyage de la culture dans un mortier et d'appliquer avec un tampon de coton cette émulsion de spores et de mycélium broyé sur les scarifications. L'un et l'autre procédé donnent des résultats positifs constants; il suffit de réaliser des infestations aussi abondantes et aussi larges que possible, et de surveiller l'animal jusqu'à ce que le produit appliqué sur les scarifications ait subi un début de dessiccation qui réalise son adhérence.

4° L'âge des cultures n'est pas indifférent. Les résultats les plus constants sont obtenus avec des cultures de trois semaines à un mois; les cultures plus jeunes paraissent moins régulièrement virulentes; par l'emploi de cultures plus âgées on risquerait d'inoculer des formes pléomorphiques.

5° La mise en pratique de ce procédé nous a montré les avantages suivants :

Sa rapidité : épilation, scarifications à grands traits parallèles se font très vite avec un aide ayant quelque habitude de la présentation des cobayes. Nous avons réalisé ainsi rapidement l'inoculation de séries importantes (6, 10, 12 et 15) de cobayes.

Les lésions ainsi obtenues se développent en larges placards. L'observation de leur évolution est facile. L'infection massive ainsi réalisée est favorable aux manifestations ultérieures d'immunité que nous voulions précisément étudier.

SOUCHES INOCULÉES.

Nous avons commencé par nous familiariser avec les techniques d'inoculation en utilisant une souche de *Trichophyton gypseum* provenant des collections de l'hôpital Saint-Louis.

L'isolement successif de 92 échantillons de dermatophytes (provenant de 29 foyers différents de teigne) nous a fourni ultérieurement un matériel abondant.

C'est ainsi que nous avons essayé sur le cobaye la virulence de presque tous les *Trichophyton* d'origine équine (*T. equinum*, *T. gypseum*) ainsi que celle d'un certain nombre de *Microsporum* isolés (*M. equinum*) et d'un *Achorion gypseum*.

Les constatations que nous avons faites au cours de ces

essais de virulence confirment les données classiques déjà obtenues, en ce qui concerne la virulence des souches de teigne provenant du cheval :

1° Tous les essais d'inoculation des *Trichophyton* ont été suivis de succès sur le cobaye. C'est l'évolution type des teignes expérimentales dont nous rappelons la description plus loin.

2° Les *Microsporum* ont presque toujours donné des inoculations positives aux cobayes ; mais les réactions inflammatoires sont beaucoup moins vives, d'un contrôle parfois douteux. Nous ne nous sommes donc adressés qu'aux souches de *Trichophyton* (*T. equinum* ou *T. gypsum*) indifféremment, très comparables par l'intensité des lésions qu'elles déterminent chez le cobaye, pour l'étude de l'immunité expérimentale.

3° La souche d'*Achorion gypsum* que nous avons identifiée était nettement pathogène pour le cobaye.

4° Nous jugeons préférable d'utiliser ces souches équine après un ou deux passages préalables d'acclimatement sur le cobaye.

ÉVOLUTION DES INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES DE TRICHOPHYTIES, MICROSPORIES ET FAVUS, CHEZ LE COBAYE.

Les lésions expérimentales de *trichophyties* que nous avons réalisées chez le cobaye correspondent exactement à l'excellente description qu'en donne Sabouraud.

Les lésions traumatiques des scarifications guérissent normalement en six à huit jours. Du dixième au douzième jour, alors que tout paraît cicatrisé, se manifestent des rougeurs accompagnées de lésions squameuses. Ce stade précède de très peu l'apparition d'une croûte séro-sanguine qui s'étend progressivement en emprisonnant les poils par touffes. L'évolution normale de ce véritable placard séro-sanguin se fait, à son tour, en dix à quinze jours. La croûte tombe, emportant le poil avec elle et il reste une aire sèche, propre, caractérisée par un épiderme corné « d'allure peladoïde beaucoup plus que trichophytique ». Un léger bourrelet épidermique entoure cette lésion glabre ; mais il s'efface peu à peu.

L'évolution dure un mois environ et se termine spontanément par la guérison.

On trouve facilement des poils abondamment parasités parmi ceux englobés dans la croûte, ou parmi ceux de la périphérie de la lésion; on obtient aisément de nouvelles cultures du parasite sur gélose Sabouraud en partant de ces poils.

L'inoculation des souches de *Microsporum* d'origine équine donne très généralement des résultats positifs. Ces *microspories* sont à réactions inflammatoires relativement légères. Pour plusieurs souches dont nous avons essayé la virulence, l'évolution ne s'est manifestée que par une exfoliation épidermique abondante accompagnée de rougeurs fugaces du tégument, parfois difficiles à saisir sur les portions de peau pigmentée.

Lorsque la recherche du parasite dans ces lésions discrètes mettait en évidence des poils parasités, on pouvait conclure à l'action pathogène du *Microsporum* isolé.

Il nous est arrivé, par contre, plusieurs fois, de ne pas retrouver de poils parasités en dépit d'une réaction épidermique des plus nettes, quoique discrète.

Dans ces conditions, le contrôle de l'infestation de même que l'appréciation de l'intensité des réactions deviennent difficiles; c'est ce qui nous a amenés à abandonner les souches de *Microsporum* comme matériel d'expérimentation pour l'étude des phénomènes de l'immunité dans les teignes.

Le *favus* expérimental du cobaye, que nous avons pu réaliser avec la souche d'*Achorion gypseum* isolée au laboratoire, tient le milieu, au point de vue des réactions inflammatoires qu'il détermine, entre la réaction type décrite ci-dessus pour les trichophyties et la réaction fugace des microspories.

L'apparition des premiers phénomènes inflammatoires, ainsi que l'évolution et la guérison, surviennent dans les mêmes délais qu'avec un *Trichophyton*; mais l'inflammation est beaucoup moindre. Nous n'avons pas observé de placard séro-sanguin. Les régions scarifiées se couvrent seulement d'une production abondante de croûtes grises ou blanchâtres englobant quelques croûtes séro-sanguines qui agglutinent par endroits les poils en pinceaux. Nous n'avons pas trouvé de « godet favique » typique.

L'examen microscopique des produits prélevés au niveau de

ces lésions n'a pas décelé de poils parasités, ce qui n'a rien d'anormal dans le *favus* expérimental du cobaye. Par contre, les débris épidermiques renferment un mycélium onduleux, rubané, avec quelques filaments terminés par de grosses spores en chapelet qui témoignent de la vitalité du parasite.

Nous avons obtenu, en partant de ces prélèvements, de nouvelles cultures typiques d'*Achorion*.

III. — Immunité dans les teignes expérimentales.

La notion d'immunité dans les teignes découle d'un certain nombre d'observations cliniques. Jadassohn a noté depuis longtemps que des paysans infectés de trichophytie d'origine bovine et guéris ne paraissaient plus susceptibles de subir de nouvelles contaminations.

L'aspect marginé, en cocarde, des lésions; le fait que même dans les formes extensibles il est rare qu'un segment déjà atteint soit ultérieurement contaminé une deuxième fois, font penser que le développement des trichophyties donne lieu à une véritable immunité locale.

Sabouraud signale, dès le début de ses recherches, que, pour les inoculations expérimentales, « on doit éliminer au fur et à « mesure les cobayes qui ont servi, puisqu'une seconde inocu- « lation ne prend plus sur eux, la première étant vaccinale ».

Citron, qui avait rencontré les mêmes difficultés de réinfection expérimentale, a émis l'hypothèse qu'elles tiennent à des modifications anatomiques cicatricielles au lieu même de la première inoculation. Cette conception est à rapprocher d'une série de recherches expérimentales et histologiques de R. Stein sur l'accoutumance locale de la peau aux irritants chimiques. Stein aurait constaté que cette accoutumance, d'ailleurs transitoire, relèverait non seulement de modifications anatomiques cicatricielles, mais, dans une certaine mesure, de modifications cellulaires ayant quelque spécificité vis-à-vis de l'agent irritant employé.

En fait, le problème de l'immunité dans les teignes paraît d'un ordre plus général.

Bloch et Massini, se servant du cobaye comme animal de

choix pour l'étude de l'immunité dans les teignes expérimentales, ont montré qu'en dehors de l'immunité locale l'évolution chez l'animal d'un foyer parasitaire profond entraîne une immunité générale complète et durable.

Ils précisent les points suivants :

Seule, l'inoculation cutanée donne lieu aux phénomènes d'immunisation. L'inoculation sous-cutanée ou intra-péritonéale n'aboutit qu'à des résultats inconstants dus aux placards minuscules qui se développent généralement au niveau du pertuis cutané créé par l'aiguille de la seringue.

Seuls les produits vivants, à l'exclusion des produits de broyage ou filtrats, donnent l'immunité.

L'immunité apparaît du sixième au huitième jour et se prolonge pendant des mois.

Le sérum des animaux vaccinés ne transmet pas d'immunisation passive à un animal neuf.

Il s'agirait d'une propriété « cellulaire » se retrouvant même sur une portion de peau provenant de trichophytiques et greffée sur un autre individu (expérience de Bruno Bloch).

L'immunité développée à la suite de l'infection par une espèce de parasite serait valable contre les autres champignons des teignes. Ce fait aurait une portée biologique générale en faveur de l'unité biologique des mycoses opposée aux nombreuses divisions morphologiques et culturelles de ces agents parasitaires.

Il était utile de rappeler les principales conclusions du travail de Bloch et Massini, car les expériences nombreuses reprises sur la même question, bien que soulevant des objections sur certains points, ont confirmé la portée générale de leurs observations.

Sabouraud estime que l'immunité est liée à la production de lésions inflammatoires profondes et que l'infection par un champignon pathogène à lésions superficielles ne protège pas contre une infection ultérieure d'un parasite plus virulent, à lésions profondes. Le même auteur décrit d'ailleurs, cliniquement, la coexistence de microspories et de trichophyties sur des enfants de l'école Lailler, ces deux affections ayant été contractées successivement. Aubert décrit une tondante trichophytique développée, dans les mêmes conditions, sur la tête d'un enfant favique.

Jadassohn note la succession de réactions locales plus ou moins abortives, jusqu'à la constitution d'un véritable état d'« anergie » plutôt qu'une réelle immunité acquise d'emblée.

Bruhns, Bruhns et Prytek, Bruhns et Alexander, confirmant les résultats généraux de Bloch, estiment, en outre, que l'« aptitude immunisante » tiendrait au terrain sur lequel se développe le parasite autant qu'au parasite lui-même.

Lombardo a précisé que l'immunité, bien que n'étant pas rigoureusement spécifique vis-à-vis du parasite qui l'a déterminée, est plus stable contre ce parasite que contre les espèces voisines. Cette immunité n'est pas héréditaire et serait beaucoup moins nette chez l'homme que chez le cobaye.

Saevs observe aussi plutôt des manifestations abortives d'une nouvelle infection qu'une réelle immunité. On retrouve effectivement le parasite dans ces réactions abortives qui sont parfois masquées par le traumatisme d'inoculation, car elles sont plus précoces et fugaces.

En ce qui concerne l'aptitude des divers animaux de laboratoire : chien, lapin, chat, cobaye, les divers auteurs qui en ont fait l'étude comparative donnent tous la priorité au cobaye. Kusunoki estime l'immunité très difficile à faire apparaître chez le lapin, l'évolution des teignes étant d'ailleurs fort lente et souvent atypique chez cet animal.

G. Basch, dans une thèse récente, mentionne que l'immunité n'appartient pas aux seuls parasites susceptibles de créer des lésions profondes, et il réalise une indiscutable immunité « relative » avec des parasites issus de lésions superficielles.

*
* *

Au cours de nos recherches expérimentales, nous avons vérifié, à diverses reprises, la possibilité d'immuniser des cobayes par une première atteinte de teigne contre des réinfections ultérieures.

Ces essais ont porté sur plusieurs séries de cobayes, en variant soit la souche parasitaire utilisée, soit les délais séparant les réinoculations.

a) L'inoculation d'un *Trichophyton* nous a toujours donné

une immunité certaine vis-à-vis du *Trichophyton* correspondant aussi bien que vis-à-vis d'une souche analogue, d'origine différente ou même d'espèce différente. Nous avons utilisé du *Trichophyton gypseum* ainsi que du *T. equinum* de diverses origines.

b) Des réinoculations successives pratiquées deux, trois, quatre, cinq, etc..., jours après la première inoculation montrent que l'immunité ne paraît acquise de façon certaine qu'à partir du septième ou huitième jour, ce qui confirme les données classiques à ce sujet.

c) La plupart des cobayes inoculés ont été sacrifiés pour la recherche des anticorps spécifiques dans leur sérum, ou utilisés pour d'autres expériences. La persistance de l'immunité vérifiée sur quelques survivants a été constatée après plusieurs semaines. Un cobaye que nous avons conservé plusieurs mois s'est montré, encore après ce délai, réfractaire à l'inoculation d'une trichophytie très virulente.

d) Dans un assez grand nombre de cas, l'immunité s'est montrée d'emblée presque absolue dès la première inoculation, une réinfection ultérieure ne provoquant soit aucune lésion, soit seulement des lésions précoces et fugaces où il était impossible de mettre en évidence le parasite, ni par examen microscopique, ni par ensemencements.

Dès la deuxième inoculation, l'effet immunisant minimum obtenu correspondait toujours, dans les autres cas, à une réaction parasitaire plus hâtive, beaucoup moins accentuée et de durée d'évolution très réduite, permettant très irrégulièrement la mise en évidence du parasite dans les lésions.

Ces observations sont à rapprocher des études histologiques pratiquées en série par Hanawa sur des cobayes inoculés expérimentalement de *Trichophyton gypseum*. Cet auteur montre que la guérison spontanée qui survient chez le cobaye, dans ces conditions, est due à une inflammation aiguë, aboutissant à l'élimination des parasites que l'on retrouve intacts dans les croûtes ou dans les squames. Chez l'animal immunisé par une première inoculation, il se produit une zone inflammatoire de démarcation rapide avec modifications nécrobiotiques des couches les plus superficielles de la peau et dont la limite inférieure marque comme un rempart de leucocytes dégénérés.

Ici encore, la réaction allergique tend à l'élimination du champignon.

Ces données histologiques concordent entièrement avec les phénomènes d'immunité que nous avons observés personnellement. Elles concordent également avec les phénomènes observés par G. Basch qui écrit dans sa thèse : « Le cobaye « qui a subi déjà une première inoculation présente bien une « réaction fruste abortive, mais aussi d'incubation plus courte « et d'évolution plus rapide. Tout se passe comme si ses tégu- « ments réagissaient de façon plus légère, mais aussi plus « brusque que ceux d'un animal neuf. Cette réaction fruste est « en somme un tableau en raccourci de la maladie typique. Il « y a immunisation certes, mais aussi sensibilisation. Cette « immunisation-sensibilisation constitue l'allergie. »

IV. — Anticorps dans les teignes expérimentales.

La recherche des anticorps dans le sérum de sujets atteints de teigne a fait, depuis les premières observations de Widal, l'objet de quelques travaux. Les premiers essais effectués par Sutter lui ont fourni des résultats négatifs. Kusunoki a enregistré aussi des réactions de fixation négatives avec le sérum de malades atteints de trichophytie examiné en présence d'un antigène constitué par la trichophytine.

Costa et Fayet ont obtenu, chez deux chevaux inoculés avec *Trichophyton niveum*, une réaction de fixation légèrement positive dans un cas, et très légèrement positive dans l'autre; dans ces deux cas, la sporo-agglutination fut négative.

Carol avec le sérum de 18 malades a vu que les réactions de fixation sont positives dans les formes graves de trichophytie et partiellement positives dans les formes superficielles, alors qu'au cours du favus les résultats obtenus ont toujours été négatifs. L'antigène qu'il a employé était un filtrat de vieille culture (trichophytine).

Kolmer et Strickler enregistrent 78 p. 100 de réactions positives avec le sérum de sujets atteints de teigne, en utilisant un antigène polyvalent de *Microsporum Audouini*. Pour ces auteurs, la réaction serait spécifique.

Blumenthal et Asta von Haupt obtiennent aussi des résultats positifs avec le sérum de malades atteints de trichophytie. Leur antigène est un filtrat de culture de trois à quatre semaines de *Tr. cerebriforme*. Avec 91 cas de trichophyties profondes, ils ont obtenu 62 réactions positives et 29 négatives; avec 13 cas de trichophyties superficielles, ils ont eu, par contre, 2 résultats positifs et 11 négatifs. Pour ces auteurs, la réaction ne serait pas spécifique, car ils l'ont trouvée positive dans quelques cas de sycosis non parasitaire, et chez trois malades porteurs de ganglions tuberculeux, tous sans lésions trichophytiques.

Au cours de l'étude que nous avons entreprise sur les teignes animales, nous avons recherché d'une façon systématique les anticorps chez les cobayes inoculés, soit avec *Tr. equinum*, soit avec *Tr. gypseum*.

Les lésions caractéristiques de l'infection apparaissant neuf à douze jours après l'inoculation sous forme de larges plaques séro-sanguines, nous avons saigné les animaux de huit à quinze jours après l'apparition de ces plaques.

L'antigène employé est analogue à celui de Widal, pour la sporo-agglutination des sporotrichoses. Nous avons pris des cultures sur gélose Sabouraud, de quatre à six semaines, émulsionnées finement en eau physiologique, et filtrées sur coton. L'opacité de l'émulsion est suffisante lorsqu'on trouve au microscope une moyenne de 120 à 150 spores par champ (Oc. 4, obj. 7).

Nous avons délaissé dès le début le filtrat de cultures (trichophytine), car il ne possède qu'une valeur antigène médiocre, ce qui expliquerait les résultats négatifs obtenus par divers auteurs et, en particulier, récemment par Basch.

La technique utilisée pour la mise en évidence des sensibilisatrices est celle de Calmette et Massol : doses croissantes d'alexine, doses fixes de sérum et d'antigène.

Voici les résultats obtenus :

Avec le sérum de quatorze cobayes atteints de trichophyties graves, nous avons enregistré :

Huit réactions de fixation très positives ;

Cinq réactions de fixation légèrement positives ;

Une réaction de fixation négative.

Différents antigènes utilisés vis-à-vis de ces sérums : émulsions de *Microsporum equinum*, d'*Achorion gypseum*, de cryptocoques, antigènes syphilitiques et tuberculeux sont restés, le plus habituellement, sans action. Cependant, dans deux cas, l'antigène à *M. equinum* a donné une réaction très positive, et, dans un autre cas, celui à *A. gypseum* a fourni un résultat légèrement positif.

Les recherches faites avec le sérum de cobayes infectés expérimentalement avec ces deux dernières espèces ont donné des résultats comparables.

Nous avons pu effectuer aussi la recherche des anticorps dans le sérum de chevaux spontanément atteints de teigne. Avec neuf chevaux atteints de teigne grave à *M. equinum*, nous avons eu une réaction légèrement positive en présence de l'antigène homologue, et une réaction négative vis-à-vis des antigènes constitués par *Tr. equinum* et *A. gypseum*.

Nous avons constaté, comme Blumenthal et Asta von Haupt l'ont fait chez l'homme, que l'injection des trichophytines aux cobayes atteints de trichophytie augmente, six à huit jours après l'injection, le taux des anticorps. Par contre, la trichophytine, injectée à des animaux sains, ne provoque pas l'apparition de sensibilisatrice dans leur sérum.

En résumé, le sérum des cobayes atteints de trichophytie expérimentale possède, parfois à un taux très élevé, des anticorps décelables par la réaction de fixation. Cette réaction est spécifique dans 85 p. 100 des cas. L'injection de trichophytine augmente d'une façon sensible le taux de leurs sensibilisatrices.

V. — Réactions allergiques à la trichophytine.

Leur spécificité. Relations avec la tuberculine.

Ce sont Plato et Neisser (1902) qui eurent les premiers l'idée de préparer avec le produit de broyage et de filtrage de cultures trichophytiques un liquide : la *trichophytine*, qui, injectée dans le derme des sujets atteints de trichophyties ou appliquée par scarification, à la manière de la tuberculine, donnait une rougeur intense.

Mais c'est surtout à Bruno Bloch et Massini (1909) que revient le mérite d'avoir mis au point cette méthode en précisant sa technique.

Depuis cette époque, un très grand nombre d'auteurs se sont occupés de la question : Sabouraud, Sutter, Amberg, Kusunoki, Falchi, Cranston Low, Radaeli, Tarantelli, Basch, etc. Il résulte de tous ces travaux que la trichophytine, pure ou diluée au 1/10^e, injectée à la dose de 1/10^e de cent. cube dans la région deltoïdienne du bras d'un sujet atteint de trichophytie, produit une réaction très nette au point d'inoculation. Cette réaction apparaît dès la douzième heure; elle atteint son maximum en vingt-quatre à trente-six heures; elle consiste en un assez large placard érythémateux au centre duquel on note un véritable nodule souvent rouge vineux, infiltré et dur. L'intradermo-réaction positive s'accompagne fréquemment de réactions focales nettes et de réactions générales parfois intenses se caractérisant par de la fièvre, des frissons, de la céphalée et des sueurs.

La cuti-réaction à la trichophytine, mise en pratique pour la première fois par Bloch, donne lieu à une réaction locale moins intense : papule de la grosseur d'un pois, érythémateux. Moins régulière que l'intradermo, cette réaction a été délaissée.

La spécificité de la réaction à la trichophytine n'est pas considérée comme absolue par certains auteurs. Si, en effet, elle est négative dans la majorité des cas chez les sujets sains, il n'en est plus de même dans certaines maladies, et en particulier dans la tuberculose. C'est ainsi que Falchi, dans vingt cas de tuberculose cutanée, a enregistré dix intradermo-réactions positives à la trichophytine; Tarantelli a fait des constatations analogues; enfin, pour Peyrer les tuberculeux avérés, sans trichophytie actuelle ou ancienne, réagiraient à la trichophytine comme ils réagissent à la tuberculine.

Au cours des recherches entreprises sur les teignes animales, nous avons voulu vérifier, avec la collaboration de de Potter, cette spécificité de la trichophytine et ses relations avec la tuberculine. Nous avons donc utilisé, simultanément, la trichophytine et la tuberculine chez des sujets sains, tuberculeux, ou atteints de trichophyties, ainsi que sur des cobayes tuber-

culeux ou inoculés expérimentalement avec *T. equinum* ou *T. gypsum*.

La trichophytine que nous avons utilisée est préparée de la façon suivante : des cultures de deux mois, de *T. equinum* ou *T. gypsum*, en bouillon maltosé, sont broyées dans leur propre bouillon de culture et le produit obtenu est filtré puis additionné de 0,25 p. 100 d'acide phénique. Cette trichophytine a été employée pure ou diluée au dixième, à raison de 0 c. c. 1. en injection intradermique, suivant la technique habituelle.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

1° CHEZ DES SUJETS CLINIQUEMENT TUBERCULEUX.

Avec la *trichophytine* : 40 cuti-réactions ont fourni 39 résultats négatifs, 1 positif.

15 intradermo-réactions ont donné : 11 réactions précoces (rougeur avec papule centrale) disparaissant en deux à trois heures. Chez trois autres sujets, il a été enregistré une rougeur locale de 2 centimètres qui a persisté quarante-huit heures.

2° CHEZ LES COBAYES TUBERCULEUX.

a) Avec la *trichophytine* : 18 cobayes inoculés avec 0 milligr. 01 de bacilles tuberculeux bovins très virulents (souche Vallée), depuis quatre à six semaines, ont fourni 7 intradermo-réactions positives et 11 négatives.

b) Avec la *tuberculine brute de l'Institut Pasteur diluée au 1/100°* (en injection intradermique de 0 c. c. 1) : 10 cobayes inoculés depuis cinq semaines avec 0 milligr. 01 de bacilles tuberculeux (souche Vallée) ont donné 10 réactions positives.

c) 4 cobayes tuberculisés depuis six semaines ont résisté à l'inoculation intra-péritonéale de 1 cent. cube de trichophytine.

3° CHEZ HUIT SUJETS ATTEINTS DE TRICHOPHYTIE.

a) Avec la *trichophytine* : 4 sujets sur 4 ont présenté une intradermo-réaction positive.

b) *Avec la tuberculine* : 3 malades ont présenté une réaction précoce qui a disparu au bout de vingt-quatre heures, un autre a eu une intradermo-réaction légère qui a persisté quarante-huit heures.

4° CHEZ DES COBAYES GUÉRIS DE TRICHOPHYTIE EXPÉRIMENTALE.

a) *Avec la trichophytine* : Sur 8 animaux éprouvés, 7 ont fourni une réaction positive, 1 une réaction négative.

b) *Avec la tuberculine* : Sur 6 cobayes soumis à l'épreuve, 4 ont présenté une intradermo-réaction positive, 2 une négative.

c) 2 cobayes survivent à l'inoculation intra-péritonéale de 0 c. c. 5 de trichophytine.

d) 2 cobayes résistent à l'inoculation intra-péritonéale de 0 c. c. 5 de tuberculine.

Ajoutons, en outre, que 20 sujets sains, 10 cobayes normaux et 4 cobayes inoculés avec *Monilia albicans* ont tous présenté une intradermo-réaction négative à la trichophytine.

Enfin, nous avons constaté, comme Bruno Bloch, que les réactions positives à la trichophytine n'apparaissent, aussi bien chez l'homme que chez l'animal atteint de trichophytie, que huit jours après le début de la maladie.

En résumé, si l'intradermo-réaction à la trichophytine est positive dans presque 100 p. 100 de cas chez les sujets atteints de trichophytie ou chez les animaux inoculés expérimentalement avec les champignons des teignes, ces réactions peuvent aussi se manifester, quoique avec un pourcentage moins élevé, avec la tuberculine. De même, dans quelques cas, des sujets ou des cobayes tuberculeux peuvent présenter une intradermo-réaction positive à la trichophytine.

VI. — Essais de vaccination par la trichophytine.

Le premier, Plato a constaté que l'injection de trichophytine, plusieurs fois répétée, produisait l'atténuation et l'affaiblissement des foyers très infiltrés de trichophytie ; il admettait que cette méthode avait une réelle valeur thérapeutique.

Truffi, au contraire, étant donné l'évolution normale et spon-

tanément favorable de ces lésions, conteste la valeur thérapeutique de la trichophytine.

Bruno Bloch aurait eu, par son emploi, des guérisons dans des cas de trichophyties profondes.

Bruck et Kusunoki estiment que la trichophytine n'agit pas comme parasiticide, c'est-à-dire en tuant le champignon, mais au contraire en exerçant une action spécifique sur les tissus atteints et en favorisant l'élimination rapide du parasite. En utilisant une trichophytine provenant de vieilles cultures de *Tr. gypseum* et *Tr. cerebriforme*, qu'ils injectent par voie *intra-dermique*, ils auraient obtenu des guérisons. Ils signalent des phénomènes congestifs, des réactions locales intenses, qui leur ont fait abandonner en pratique ce procédé.

Stein emploie la trichophytine en injection intra-dermique, à raison de 1/10^e de centimètre cube, au bras ; il obtint par cette méthode des guérisons. Il utilise également, avec succès, dans les formes superficielles, une *pommade* à la trichophytine à 30 p. 100.

Pendant la guerre 1914-1918, les dermatologistes allemands ont utilisé des préparations diverses (vieilles cultures de *Trichophyton* ou d'*Achorion Quinckeanum*) avec plus ou moins de succès. C'est ainsi que la « trichophytine de Höchst » a été employée par Holzhäuser, Kall, Michael, Scholtz ; le « Trichon de Schering » par Bruck, Loewenfeld. En résumant les résultats obtenus par ces auteurs, Thibierge (1925) fait ressortir que si l'unanimité est faite pour la valeur diagnostique de ces produits, il n'en est pas de même pour leur valeur thérapeutique. En effet, dans les observations citées par les dermatologistes partisans de leur emploi, on constate que la durée de la maladie a toujours été longue et dépasse parfois celle que l'on observe avec les simples traitements courants.

Fuhs, Rozsvalchyi, Persson, Novak, apportent, par contre, des observations optimistes qui confirment les récents travaux de Bruno Bloch (1923).

ESSAIS DE VACCINATION DU COBAYE PAR LA TRICHOPHYTINE.

Nous avons utilisé, au cours de nos recherches, la trichophytine qui nous a servi pour les intradermo-réactions, c'est-à-dire

des cultures de *Trichophyton equinum* ou *gypseum*, en bouillon maltosé, de deux mois, broyées dans leur propre bouillon de culture. Le liquide ainsi obtenu est filtré ou centrifugé, puis additionné ou non de 0,25 p. 100 d'acide phénique.

Etant donné l'électivité du parasite des teignes pour la peau, nous avons tout d'abord tenté d'immuniser le cobaye par la *voie cutanée*.

a) Quatre cobayes reçoivent *en pansement*, sur la peau du dos préalablement rasée, une compresse imbibée de trichophytine. Ce pansement est maintenu en place pendant vingt-quatre heures. Les animaux sont, le deuxième jour, éprouvés par une culture de *Trichophyton equinum*. Ils présentent tous quatre, le huitième jour, des plaques de teigne aussi étendues que celles des témoins.

b) Six cobayes sont inoculés avec une culture de *Trichophyton gypseum*; tous reçoivent immédiatement après l'inoculation, en trois points, 1 cent. cube de trichophytine en injection *intra-dermique*. Chez 4 de ces cobayes, on procède le deuxième et le quatrième jour à de nouvelles inoculations intracutanées de trichophytine (1 cent. cube réparti en trois points différents).

Les deux cobayes qui ont reçu une seule injection de trichophytine présentent des plaques de teigne moins étendues que celles des témoins; mais elles apparaissent dans le même temps.

Les quatre autres cobayes, qui ont été inoculés trois fois à la trichophytine, restent complètement indemnes; ils n'ont aucune lésion apparente de la maladie. Dans un cas, on trouve de légères squames dans lesquelles ni l'examen microscopique ni la culture n'ont pu déceler de parasites.

Dans une autre série d'expériences, 12 cobayes ont reçu, immédiatement après l'inoculation de *Tr. gypseum*, 1 cent. cube de trichophytine par la *voie sous-cutanée*; ces injections sont répétées ensuite, trois fois, tous les deux jours.

Neuf des cobayes ainsi traités ont présenté des plaques de teignes aussi étendues que celles des témoins; elles apparaissent seulement avec deux ou trois jours de retard.

Les trois autres cobayes n'ont manifesté localement qu'une lésion atténuée : squames peu nombreuses, dans lesquelles ni

par examen microscopique, ni par la culture, on n'a pu mettre en évidence de parasites.

Il résulte donc de ces expériences que la trichophytine employée par la *voie intra-cutanée*, en injections répétées, semble protéger le cobaye contre l'inoculation expérimentale de *Tr. gypseum*.

Par contre, utilisée en *pansements cutanés*, ou en *injections sous-cutanées*, elle reste le plus souvent sans effet.

VII. — Electivité cutanée des teignes animales.

Les teignes sont des affections normalement localisées à la peau. On peut les reproduire expérimentalement en introduisant dans la peau un poil parasité ou une culture du parasite. Sabouraud indique de tondre la peau entre les deux épaules et, sur cette surface, de faire en triangle trois piqûres, qu'on ensemente avec la culture. Nous avons déjà indiqué pourquoi nous avons modifié cette technique, en pratiquant, sur la région dorsale tondue ou épilée, de larges scarifications parallèles dans lesquelles on introduit la culture. De neuf à douze jours après, il apparaît sur ces surfacesensemencées de larges placards séro-sanguins englobant les poils, qui se détachent ensuite en touffes.

L'examen microscopique montre que ces poils sont envahis par le parasite.

Les autres voies habituelles d'introduction : sous-cutanée, péritonéale, veineuse, digestive, ne permettent qu'exceptionnellement le développement des champignons des teignes.

Parfois, on note seulement au point d'injection une très petite plaque grisâtre, dont les squames examinées au microscope ou ensemençées sur gélose Sabouraud montrent la présence du champignon. Cette infection locale est due à la trace de culture qui reste dans le canal de la piqûre cutanée.

Les premiers essais pour introduire les champignons des teignes par diverses voies d'inoculation semblent dues à Elsénberg, en 1889, avec des cultures de *favus* introduites par voie intra-veineuse. Il n'obtint d'ailleurs que des résultats négatifs, de même que Carini, en 1891, et Truffi, en 1902.

Chez le lapin, Bukowsky provoqua, au contraire, des nodules du poumon par inoculation intra-veineuse d'*Achorion*.

Sabrazès obtint des résultats encore plus nets de péritonite nodulaire avec l'*Achorion* de Schœnlein, ainsi que Stavino qui put produire, avec une espèce trichophytique non déterminée, des lésions du foie, des reins et du cœur.

Citron signale la production de pseudo-tuberculoses chez le lapin, les cobayes et les souris en partant de six espèces : favus de la souris et de l'homme, *Trichophyton* du chat et divers *Microsporum* : mais il constate qu'il s'agit plutôt de lésions emboliques, le parasite ne se développant pas au niveau de ces lésions. Il obtient d'ailleurs des lésions identiques par inoculation de cultures tuées.

Dans nos essais, chez le cobaye, des inoculations à doses massives sont restées sans effet. Des contrôles histologiques effectués sur différents organes (reins, foie) ont toujours fourni des résultats négatifs. Notons pourtant que Saeves, en 1915, avait pu démontrer que l'injection intra-cardiaque de spores fait apparaître, sous la peau d'animaux d'expérience inoculés par ce procédé, des trichophyties « d'origine hématogène ».

Nous avons alors cherché quelle pouvait être la réaction de la peau lors des inoculations par les diverses voies. Les espèces de *Microsporum* et d'*Achorion* que nous possédons étant très peu virulentes, nous avons opéré avec *Trichophyton gypseum* et *Trichophyton equinum*, ces souches nous donnant très régulièrement une infection expérimentale nette chez le cobaye.

Les inoculations ont été faites avec une culture de quatre à six semaines, émulsionnée finement en eau physiologique, et filtrée sur coton. On juge que l'opacité est suffisante lorsqu'on trouve au microscope 420 à 450 spores par champ (oc. 4; ob. 7).

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Cinq cobayes reçoivent dans la veine 1 cent. cube d'émulsion. De suite après l'injection, on fait quatre scarifications dans la région dorsale. Quatre des cobayes présentent, douze à quinze jours après, des plaques typiques de teigne au niveau des scarifications. L'examen microscopique et les cultures permettent l'identification indubitable du parasite.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Cinq cobayes reçoivent, *dans le péritoine*, 2 cent. cubes d'émulsion ; on fait, aussitôt après, quatre scarifications sur le dos. Dans le même temps que ci-dessus, les scarifications sont envahies par le parasite.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — Quatre cobayes absorbent *par la bouche* 2 cent. cubes d'émulsion ; on leur fait dans les mêmes conditions des scarifications sur le dos. Quinze jours après l'ingestion, deux d'entre eux présentent une plaque de teigne au niveau des points scarifiés.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE. — Cinq cobayes reçoivent *sous la peau* 2 cent. cubes d'émulsion. On fait immédiatement des scarifications dorsales qui, quinze jours après, montrent des plaques typiques de teigne sur deux de ces cobayes.

Dans tous ces cas, les plaques de teigne sont apparues avec un léger retard, de quarante-huit heures à trois jours, sur celles des témoins. Les animaux inoculés ont toujours été sévèrement isolés des témoins et groupés par séries d'inoculation afin d'éviter les contaminations accidentelles. Enfin, nous avons toujours vérifié, par examen microscopique et cultures, que nous avons bien affaire, dans les lésions se développant au niveau des scarifications, au parasite même inoculé par les diverses voies sous forme d'émulsion de spores.

En résumé, quelle que soit la voie d'introduction du parasite des teignes, le seul organe réceptif est la peau. La culture introduite dans l'organisme a tendance à se localiser au revêtement cutané et, si celui-ci est lésé, le champignon se développe au lieu même de la lésion.

Conclusions.

I. La *détermination systématique* des parasites des teignes du cheval, effectuée sur 140 prélèvements provenant de 40 foyers distincts de teigne, et des régions les plus diverses, a fait res-

sortir la fréquence relative suivante des diverses espèces parasitaires :

<i>Microspories</i>	72,5 p. 100
<i>Trichophyties</i>	25 p. 100
<i>Favus</i>	2,5 p. 100

Les Microspories sont donc, de beaucoup, les plus fréquentes et le terme générique de « Trichophytie » trop couramment consacré par l'usage pour désigner, en langage clinique, les teignes du cheval est inexact dans les trois quarts des cas.

Nous avons identifié un cas de favus équin (*Achorion gypseum*, de Bodin) considéré jusqu'ici comme tout à fait exceptionnel, aucun cas n'en ayant été signalé, en France, depuis 1908 (1).

II. Le cobaye est bien l'animal de choix pour l'étude expérimentale des dermatophyties, tant par la facilité de ses manipulations que par la fidélité de ses réactions positives.

Tandis que les *techniques d'inoculation* classiques cherchent à réaliser l'évolution d'une seule plaque de teigne limitée pour en étudier les caractères, nous avons préféré l'inoculation par longues scarifications parallèles sur une large surface, afin de réaliser une infestation massive en placards entraînant une incontestable immunité.

III. *L'immunité expérimentale* acquise par le cobaye, à la suite d'une première inoculation de teigne, n'est pas contestée.

Nous avons vérifié que son apparition demande sept à huit jours pour se manifester, et qu'elle est durable (plusieurs mois).

Le degré de cette immunité a été diversement apprécié par les auteurs. Elle ne nous a pas toujours paru absolue. En fait, il peut y avoir, après une première infestation positive de teigne, de nouvelles réinfections. Jamais elles n'évoluent comme la première; elles se manifestent par une réaction plus hâtive, fruste et abortive, avec tendance très nette à une élimi-

(1) Depuis la rédaction de notre travail, nous venons d'isoler une deuxième souche d'*Achorion gypseum*, provenant d'un cas de favus équin dans la région de Colmar (12^e régiment de dragons).

nation rapide du parasite par la peau. Il est fréquemment impossible de mettre le parasite en évidence, par examen microscopique ou cultures, dans ces réactions avortées.

Bien que l'immunité soit incontestablement liée à l'existence d'une lésion cutanée antérieure, et d'autant plus nette que cette lésion a intéressé plus profondément le derme (dermites trichophytiques), les teignes à évolution superficielle (Microspories) nous ont donné aussi des manifestations incontestables d'immunité. Celle-ci est moins facile à mettre en évidence, les inoculations de ces teignes donnant toujours des réactions plus légères et moins constantes, d'intensité plus difficile à apprécier et de contrôle microscopique douteux.

IV. Le sérum des *cobayes* atteints de trichophytie expérimentale possède, parfois à un taux très élevé, des anticorps spécifiques décelables par la réaction de fixation.

Cette réaction est spécifique dans 85 p. 100 des cas. L'injection de trichophytine augmente d'une façon sensible le taux des sensibilisatrices.

Avec le sérum de *chevaux* atteints de Microsporie grave, nous avons eu, dans 100 p. 100 des cas examinés, une réaction légèrement positive en présence de l'antigène homologue, et une réaction négative vis-à-vis des antigènes constitués par *Tr. equinum* et *Ach. gypseum*.

V. *L'intradermo-réaction* à la trichophytine est positive dans presque 100 p. 100 des cas chez les sujets atteints de trichophytie, ou chez les animaux inoculés expérimentalement avec les champignons des teignes. Ces réactions peuvent aussi se manifester, quoique avec un pourcentage moins élevé, avec la tuberculine.

Dans quelques cas, des sujets ou cobayes tuberculeux peuvent présenter une intradermo-réaction positive plus ou moins typique à la trichophytine.

VI. *L'électivité cutanée* des teignes animales est très manifeste. Quelle que soit la voie d'introduction du parasite des teignes (voie sous-cutanée, intra-veineuse, intra-péritonéale et même voie digestive), le seul organe réceptif est la peau. La

culture introduite dans l'organisme a tendance à se localiser au revêtement cutané et, si celui-ci est lésé, le champignon se développe au lieu même de la lésion.

L'immunité résultant d'une première atteinte, spontanée ou expérimentale, de teigne, semble, *a priori*, réaliser le type même des « immunités locales ».

En cherchant à préciser les manifestations de cette immunité dans les teignes expérimentales du cobaye, nous avons particulièrement relevé les constatations suivantes :

1° Cette immunité n'est pratiquement réalisable que par l'inoculation de cultures vivantes, et non par celle de cultures tuées ou d'extraits divers de ces cultures.

2° Elle nécessite, pour s'établir, une lésion préalable de la peau et est d'autant plus nette que le derme a réagi plus profondément.

3° C'est précisément la peau qui est l'organe réceptif par excellence des parasites des teignes, quel que soit leur mode d'introduction dans l'organisme.

L'ensemble de ces faits tend donc à prouver que l'organe producteur de l'immunité est précisément celui pour lequel l'électivité des teignes est si nettement marquée : c'est-à-dire la peau.

Dans le cas particulier des dermatophyties, l'immunité s'établirait donc, comme il a été déjà démontré (Besredka) pour un certain nombre de maladies infectieuses, par la voie normale d'infection; elle serait d'origine locale et « cellulaire », ainsi que certains auteurs l'avaient déjà remarqué de longue date (Bruno Bloch). Cette immunité met un certain laps de temps pour s'établir et elle s'accompagne d'apparition d'anticorps, décelables *in vitro* par la réaction de fixation.

(Institut Pasteur et Laboratoire militaire
de recherches vétérinaires.)

BIBLIOGRAPHIE

- AMBERG (Samuel), The cutaneous Trichophyitin reaction. *Journ. of exp. Med.*, 1910, p. 435.
ARNOLD. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 136.
BASCH (G.), Les réactions humérales au cours des trychophyties. *Thèse*, 1925, Jouve et C^{ie}, éditeurs, Paris.

- BESREPKA, *Immunisation locale, pansements spécifiques*. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1925.
- BLOCH (Bruno), Un nouveau traitement des trichophyties et sa base scientifique. *La Médecine*, novembre 1923.
- BLOCH et MASSINI, Studium über Immunität und über Empfindlichkeit bei hyphomyzetenerkrankheiten. *Zeit. f. hyg. und Infektionskr.*, **36**, 1909, p. 66.
- BLUMENTHAL et ASTA VON HAUPT, Immunisatorische Vorgänge bei der trichophytie des Menschen. *Deut. Med. Woch.*, 1920, p. 37.
- BROCC-ROUSSEU, Etude épidémiologique des teignes du cheval. *Bull. Acad. de Méd.*, **95**, n° 40, 9 mars 1926.
- BROCC-ROUSSEU, URBAIN et BAROTTE, Etude sur les teignes du cheval. *Bull. de la Soc. Centr. de Méd. Vét.*, 30 avril 1926, p. 171.
- BROCC-ROUSSEU, URBAIN et BAROTTE, Anticorps dans les teignes expérimentales. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **95**, 10 juillet 1926, p. 464.
- BROCC-ROUSSEU, URBAIN et BAROTTE, Sur l'électivité cutanée des teignes animales, quelle que soit leur voie d'introduction dans l'organisme. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **95**, 16 octobre 1926, p. 966.
- BRUCK, Ueber die Behandlung tiefer Bartflechten mit « Trichon ». *Münch. med. Woch.*, 26 mars 1918, p. 347.
- BRUCK et KUSUNOKI, Ueber spezifische Behandlung von Trichophytien. *Deut. med. Woch.*, 1911, p. 1110.
- BRUHNS et ALEXANDER, Zur Frage der Immunität nach Trichophytie-Erkrankungen. *Dermat. Zeitsch.*, **17**, n° 10, 1910, p. 695.
- BRUHNS et PRYTEK, Zur Frage der Immunisierung nach Trichophytien Infektion. *Arch. f. Derm. und Syph.*, **112**, 1912, p. 664.
- BRUMPT, *Précis de Parasitologie*. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1922.
- BUKOWSKY, Ein Beitrag zur Kenntniss der experimentellen und klinischen Eigenschaften den Achorion Schönleini. *Arch. Dermat. und Syph.*, **51**, 1900.
- CARINI, Sull' Istogenesi del pseudo-tuberculo sperimentale, *Le Sperimentale*, fasc. 5 et 6, 1891.
- CAROL, Die Komplementbindungsreaktion bei Trichophytie. *Berl. klin. Woch.*, 1918, p. 1006.
- CAZALBOU et SÉRIZÉ, Etude tinéologique. *Revue Vétérinaire militaire*, 1913, p. 344.
- COSTA et FAYET, Sur l'immunité acquise dans les Trichophyties. *Réunion Biol. de Marseille* in *C. R. Soc. Biol.*, **71**, 1^{er} avril 1911, p. 553.
- CRANSTON (Low), *Anaphylaxis and Sensitisation*, Edimbourg, 1924, p. 102.
- ELSENBERG, Ueber den Favuspilz. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 1889-1890.
- ENGELHARDT (W.), *Dermat. Woch.*, n° 41, 1923, p. 1193.
- FALCHI, Osservazioni diagnostiche e terapeutiche sulla trichofinita pollaci. *Giorn. ital. veneree e della pelle*, 1924, p. 716.
- FAYET (A.), Traitement et prophylaxie des teignes chez le cheval. *Thèse de doctorat vétérinaire*, Paris, 1925.
- FOLLY, *Société Viennoise de Dermatologie*, 11 mai 1892.
- FUHS, Ueber die therapeutische Wirksamkeit eines durch Verdanung von Trichophytonkulturen gewonnenen Präparates (Joannovicz). *Wien. klin. Woch.*, 1920, p. 653.
- HANAWA, Histologische untersuchungen über Trichophytieheilung und Allergie beim Meerschweinchen. *Dermat. Woch.*, n° 32, 9 août 1913, p. 939.
- HOLZHAUSER, Trichophytin, Vakzine und Terpentin in die Dermatologie. *Deut. med. Woch.*, 7 novembre 1918, p. 1253.

- JADASSOHN, Ueber die Trichophytien. *Berl. klin. Woch.*, 1918, p. 489.
- KALL (K.), Beitrag zur Behandlung der Pilzflechten der Haut. *Münch. med. Woch.*, 21 mars 1919, p. 321.
- KOLMER et STRICKLER, Complement-fixation in parasitic skin diseases. *Journ. of the Amer. Assoc.*, 6 mars 1915, p. 800.
- KUSTNOKI, Experimentelle und klinische Studien zur Lehre der Dermatomykosen. *Arch. f. Dermat. und syph.*, 114, 1913, p. 1.
- LOEWENFELD, *Dermat. Woch.*, 1919, p. 619.
- LOMBARDO, Ricerche sulla ipersensibilità ed immunità in alcune dermatomycosi. *Giorn. Ital. d. mal. della pelle*, 1911, p. 70.
- MARIANI, *Giorn. Ital. d. mal. veneree e della pelle*, 1923, p. 587.
- MATRUCHOT et DASSONVILLE, Sur un nouveau trichophyton produisant l'herpès chez le cheval. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1^{er} août 1898.
- MATRUCHOT et DASSONVILLE, A propos d'une épidémie de trichophytie équine récemment décrite. *Rev. génér. de Méd. vétér.*, 15 juillet 1909, p. 74.
- MICHAEL, *Therapie der Gegenwart*, n° 10, 1919.
- MONACELLI, Sul valore delle tricoftine a scopo diagnostico e terapeutico. Tip. Fabriano, 1923.
- NEISSER, Plato's Versuche über die Herstellung und Verwendung von « Trichophytin ». *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 60, 1902, p. 63.
- PECUS et SABOURAUD, Une épidémie de trichophytie équine. Analyse mycologique. *Revue génér. de Méd. vétér.*, 15 mai 1909, p. 561.
- PEYRER (R.), Trichophytin und Tuberculin. *Wien. klin. Woch.*, n° 5, 29 janvier 1925, p. 14.
- PRYTEK, Zur Kenntniss der Immunität nach Trichophytieninfektion. *Arch. f. Derm. und Syph.*, 113, 1912, p. 821.
- RADAELI, *Giornale Italiano di Dermatologia e Sifilografia*, fasc. 2, 1925, p. 612.
- SABOURAUD, *Les teignes*. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1910.
- SABRAZÈS, Pseudo-tubercules faviques expérimentales. *Ann. de Dermat. et de Syph.*, 1893, p. 414.
- SAEVES, Experimentelle Beiträge zur Dermatomykosenlehre. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 121, 1915, p. 161.
- SCHOLTZ (W.), Ueber die diagnostische und therapeutische Anwendung des Trichophytin Höchst. *Münch. med. Woch.*, 7 mai 1918, p. 509.
- STAVINO, Lésions expérimentales histologiques, par la culture du *Trichophyton tonsurans*. *C. R. du XIII^e Congrès international de Médecine*, Paris, 1900, in *Section de Dermat. et Syph.*, p. 435.
- STEIN, Die spezifische Behandlung der tiefen Trichophytie. *Wien. klin. Woch.*, 1912, p. 1817.
- STEIN, Experimentelle und histologische Untersuchungen über Hauptgewöhnung. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 97, 1909, p. 27.
- STRICKLER (A.), *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 65, 1915, p. 225.
- SUTTER, Pathogenese der Trichophytide. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 1920, p. 735.
- TARANTELLI (E.), Saggi di allergia alla tricoftina e deduzioni di patologia generale cutanea. *Giornale Italiano di Dermat. e Sifilol.*, 63, février 1926, p. 108.
- THIBIERGE (G.), Les enseignements dermatologiques de la guerre 1914-1918. *Ann. de Dermat. et de Syph.*, novembre 1925, p. 647.
- TRUFFI, Un caso di kerion dovuto all' achorion di schönlein. *Giornale Italiano del mal. ven. e del pelle*, fasc. 4, 1902.
- TRUFFI, Ricerche sulla tricoftina. *Clinica medica italiana*, 1901.

- URBAIN, BAROTTE et CAPDEBIELLE, Sur un cas de teigne équine due à l'*Achorion gypseum*. *Soc. cent. de Méd. vét.*, 102, n° 2, 1926, p. 50.
- URBAIN et DE POTTER, Sur la spécificité de l'intradermo-réaction à la trichophytine; ses relations avec la tuberculine. *C. R. Soc. Biol.*, 19 novembre 1926, p. 1191.
- WIDAL, ABRAMI, JOLTHAIN, BRISSAUD (Et.) et WEILL (A.), Séro-diagnostic mycosique. Applications au diagnostic de la sporotrichose et de l'actinomyose. Les coagglutinations et cofixations mycosiques. *Ces Annales*, n° 1, janvier 1910, p. 1.

TYPES DE CULTURES DE TEIGNES ÉQUINES

FIGURE 1. — *Trichophyton gypsum* ; *Achorion gypsum*.

FIGURE 2. — *Microsporum equinum* ; *Trichophyton equinum*.

Nota. — Toutes ces souches sont d'origine équine, provenant directement des prélèvements reçus des régiments. Elles ont été photographiées au moment optimum de leur développement (trois semaines à un mois), avant toute apparition de formes de pléomorphisme.

Photos P. JEANTET, de l'Institut Pasteur.

FIGURE 1

- Tube A. — Culture de *Trichophyton gypsum* (gélose Sabouraud). Aspect blanc plâtreux.
- Tube B. — Culture d'*Achorion gypsum* (gélose Sabouraud). Aspect plâtreux ; teinte café au lait.
- Tube C. — Culture d'*Achorion gypsum* (pomme de terre). Aspect blanchâtre ouaté.

FIGURE 2

- Tube A. — Culture de *Microsporum equinum* (gélose Sabouraud). Culture glabre ; gris beige.
- Tube B. — Culture de *Microsporum equinum* (pomme de terre). Aspect cartonneux ; teinte grisaille.
- Tube C. — Culture de *Trichophyton equinum* (gélose Sabouraud). Blanc duveteux.
- Tube D. — Culture de *Trichophyton equinum* (pomme de terre). Trainée humide ; teinte ocre.

FIGURE 1.



FIGURE 2.



ÉTUDE DE LA RÉACTION DE GRAM

par PH. LASSEUR et SCHMITT.

En 1883, C. Friedländer montre la possibilité de colorer les Coccis dans les coupes de poumons. Pour cela, il suffit d'utiliser la méthode imaginée par son collaborateur le Dr Gram, de Copenhague. Dans son désir de justifier sa conception de la pneumonie, Friedländer préconise une méthode qui n'est pas encore au point, ainsi que le fait judicieusement remarquer Gram en 1884. Le mémoire de l'élève reflète des sentiments différents de ceux du maître. Koch et Ehrlich viennent de découvrir une méthode de coloration élective du Bacille tuberculeux, mais la mise en évidence des autres germes infectieux reste pénible et tous les microbiologistes de l'époque désirent doter la science de procédés permettant *la coloration élective* des Schizomycètes autres que le Bacille tuberculeux.

Une observation célèbre (1) conduit à la réaction de Gram et donne en partie satisfaction aux desiderata ci-dessus. Les Bactériologistes ne se limitent pas longtemps à la mise en évidence des germes dans les tissus, ils veulent par l'emploi de colorants appropriés déceler des différences physico-chimiques entre les diverses espèces microbiennes. Et en attendant de franchir cette étape, les microbiologistes tentent de diviser les Bactéries en deux catégories : celles qui prennent et celles qui ne prennent pas le Gram.

Or à mesure que les essais se multiplient, la méthode présente des défaillances et elle paraît infidèle. Cela tient à ce que tous les germes se décolorent par la méthode de Gram, mais la durée de décoloration varie de *quelques secondes à six, douze, vingt-quatre heures*. Et par suite à la notion de *prend ou ne prend pas le Gram*, il faut substituer celle de vitesse de déco-

(1) Gram attribue cette observation au hasard; mais même si ce fait était exact, le mérite de Gram ne serait pas diminué.

loration (Neide, 1904 [1] et Meyer, 1912). Et l'on est ainsi conduit à l'analyse quantitative du phénomène.

En nous inspirant de cette conception, il nous a paru possible de reprendre avec fruit les travaux de Gottstein (1885) [2], Unna (1888), Lustgarten (1885), Eisenberg (1910). Par l'emploi de décolorants convenables, il devait être possible de caractériser des espèces ou des groupes d'espèces.

Ce sont ces tentatives que nous allons résumer dans les pages suivantes.

TECHNIQUE.

La détermination du temps nécessaire à la décoloration ne peut être effectuée qu'en prenant certaines précautions qui ont été signalées au moins en partie par Neide (1904) et Eisenberg (1910). Par suite, nous nous bornerons à résumer la technique que nous avons adoptée.

Les préparations doivent être minces et très homogènes. Tous les procédés qui permettent d'atteindre ce but peuvent être utilisés.

Nous avons obtenu de bons résultats en opérant de la façon suivante.

VERRERIE. — Les préparations sont effectuées sur des lames très propres et surtout bien exemptes de matières grasses.

EMULSION. — On utilise des cultures sur gélose d'âge convenable. Les corps microbiens sont prélevés sans toucher le substratum nutritif. On effectue une émulsion dense et très homogène. Pour atteindre ce but, la filtration (3) suffit dans certains cas, tandis que dans d'autres il est nécessaire d'avoir recours à l'agitation avec des billes de verre et à la centrifugation partielle.

(1) Neide emploie l'expression de *Gramdauer*. Cette expression manque de clarté; elle s'appliquerait mieux à la persistance de la décoloration qu'au temps nécessaire à sa production. Le mot *vitesse* traduit mieux la pensée de Neide que le mot *durée*.

(2) Gottstein a posé le principe de la décoloration par les électrolytes. Le principe s'esquissait déjà il est vrai dans les méthodes de Koch (1877-1878), Lustgarten (1885), Futterer (1885), Giacomi (1885).

(3) Des plaques de verre poreux avaient été mises à notre disposition par M. le Dr Praunitz, d'Iéna.

ÉTALEMENT. — Les préparations doivent être étalées très régulièrement, sinon la lecture des résultats devient fort difficile. Ainsi, dans la décoloration du *Vibrio cholérique* par l'acide acétique, les plastides isolées sont décolorées en treize minutes tandis que les amas résistent pendant trente et quarante minutes à l'action de la liqueur acide.

L'étalement peut être effectué à l'aide de lamelle ou d'anse de platine. En raison de la propreté de la verrerie, l'émulsion s'étale avec une grande rapidité. On agite les préparations pour hâter la dessiccation, puis on les abandonne deux heures à 37° ou 40°C.

COLORATION. — Les colorants et les solutions iodo-iodurées sont toujours de préparation récente. Au moment de l'emploi, ces solutions sont distribuées dans des tubes Borrel. On utilise un dispositif simple qui permet d'immerger et d'agiter à la fois 12, 24, 36 préparations.

On colore pendant deux minutes (1). Au sortir du bain colorant, on absorbe (2) à l'aide de papier filtre l'excès de liquide coloré. Les préparations sont ensuite plongées dans le bain iodo-ioduré, n° 2.

Les préparations devant rester en tout deux minutes dans le liquide de Lugol, on *neutralise* le temps nécessaire pour passer du bain n° 1 au bain n° 2.

A la sortie du bain iodo-ioduré, on enlève rapidement l'excès de liquide et on immerge les préparations dans le décolorant. On agite pendant toute la durée de la décoloration. Ce point capital avait été bien mis en évidence par Hijmans van den Bergh (1896).

On fait agir le décolorant durant des temps connus. Puis on lave les préparations à l'eau distillée pendant deux minutes. On agite constamment durant le lavage. Les préparations séchées sont examinées au microscope. Il y a un gros intérêt à utiliser : 1° des objectifs apochromatiques; 2° une source de lumière aussi constante que possible.

Test de décoloration : Après l'action des violets phéniqués et

(1) Les temps sont mesurés d'une façon précise.

(2) En quelques secondes.

des solutions iodées, les plastides paraissent colorées en noir, violet-noir ou bleu-noir suivant le colorant, l'objectif et la source lumineuse utilisés. Lorsqu'on immerge les plastides colorés dans un liquide convenable, on constate que la décoloration est progressive. Il y a des stades de passage : violet-rouge ou violet-bleu, gris clair violacé (teinte voisine mais plus faible que 503 A du code des couleurs) et incolore.

Nous avons adopté comme test de décoloration, la teinte gris clair violacé, car il est difficile de saisir exactement le passage du gris à la décoloration totale. La décoloration complète exige beaucoup de temps et la mise au point des préparations non colorées est toujours longue et pénible.

PROTOCOLE D'EXPÉRIENCE.

Pour déterminer une valeur nous avons toujours, dans chaque série, utilisé une centaine de préparations. Tous les essais ont été faits en double. Les expériences réalisées à la hâte, sans contrôle rigoureux, conduiraient leurs auteurs à de singulières conclusions; car, dans l'atténuation des erreurs fortuites, les moyennes ont une importance beaucoup plus grande en biologie que dans les sciences rationnelles.

MATÉRIEL BACTÉRIEN.

Nos recherches ont porté sur des Bactéries asporogènes et des Bacilles sporogènes. Ces derniers germes provenaient de différents Laboratoires; aussi avons-nous fait suivre le nom de la Bactérie de celui de la collection d'origine. Un certain nombre de souches bactériennes avaient été mises à notre disposition par M. Legroux (Institut Pasteur).

Le mode opératoire étant décrit, nous étudierons comment la vitesse de décoloration est influencée par les facteurs suivants : âge de la culture; température de l'eau de lavage; température du liquide décolorant; nature du milieu nutritif; du mordant, du décolorant, de la solution iodée et du décolorant.

FACTEURS DE LA VITESSE DE DÉCOLORATION.

Les variations de vitesse de décoloration, sous l'action du milieu (1), de l'âge de la culture (2), de l'autolyse (3), de la chaleur (4), des agents chimiques (5), des humeurs de l'organisme (6), des fixateurs (7), ont suscité de nombreux travaux. Mais étant donné l'idée qui a présidé à nos recherches, nous n'envisagerons que l'âge de la culture et la nature du milieu nutritif (7).

1° AGE DE LA CULTURE. — Lorsque l'on effectue la réaction de Gram sur une culture de *B. subtilis* ou de *B. mesentericus* âgée de quelques jours, on constate que toutes les plastides ne résistent pas également à la décoloration.

Bacillus mesentericus niger.

TEMPS DE SÉJOUR dans l'alcool à 80° C	POURCENTAGE de plastides décolorés
2 minutes	5
5 minutes	10
10 minutes	30
20 minutes	50
40 minutes	70

Cela tient à ce que tous les éléments bactériens ne sont pas équivalents. Dans un même tube de culture, il y a un mélange de plastides mortes et de plastides vivantes de spores et de bâtonnets germinatifs d'éléments au repos et en voie de division de sporanges à tous les stades d'évolution. Les Bactéries asporogènes n'ont pas un cycle aussi compliqué que les germes dont nous venons de parler; mais elles passent néanmoins par une série de phases successives. Il n'y aura donc rien de sur-

(1) Neide (1904); Grimme (1902).

(2) Czaplewski (1896); Grimme (1902); Neide (1904); Kuntze (1908).

(3) R. et W. Albert (1901); R. Trommsdorff (1902).

(4) R. Trommsdorff (1902); Neide (1904); Nikitine (1898).

(5) Baumgarten et Braem (1888); Hieroclès (1897); Nikitine (1898); Guerbet et Meyer et Schaeffer (1910); Eisenberg (1910).

(6) Ladislaus Deutsch, Kisskalt (1904).

(7) Paltauf (1892).

prenant si des cultures d'âges différents ne réagissent pas d'une façon identique aux agents colorants.

Nous indiquons ci-dessous les valeurs relatives à quatre cultures de Bactéries sporogènes.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION	
	Culture de 24 heures	Culture de 48 heures
<i>B. mesentericus fuscus</i>	70 minutes.	80 minutes.
<i>B. mesentericus niger</i>	40 minutes.	50 minutes.

Il est bien entendu que l'aspect extérieur des plastides équivalents reste constant pour une espèce cultivée dans des conditions déterminées ou du moins les variations de forme sont très difficilement perceptibles pour des plastides équivalents. Mais des modifications morphologiques insignifiantes peuvent correspondre néanmoins à des variations physico-chimiques importantes du cytoplasme ou de la membrane, car tout être « *qui vit change par cela même qu'il vit* ».

Il y a pour chaque espèce bactérienne un stade où la vitesse de décoloration atteint son maximum. C'est en général au moment où le cytoplasme n'offre aucune différenciation et paraît homogène, ainsi que cela s'observe avec les plastides jeunes. Mais comme chaque espèce parcourt son cycle avec une vitesse déterminée (pour des conditions données), il en résulte que le stade de durée maximum correspond à des cultures dont l'âge varie avec l'espèce expérimentée.

2° NATURE DU MILIEU DE CULTURE. — Les expériences anciennes de Cramer (1891-1893-1895-1898), Lyons (1897), les recherches récentes de Lobstein (1922) ont montré une relation étroite entre le milieu de culture et la composition chimique des plastides. Certes, on ne peut pas admettre sans réserve les nombres proposés par des auteurs qui n'ont pas tenu compte des phénomènes d'adsorption; mais l'ordre de grandeur des nombres trouvés suffit à nous montrer que la composition des Bactéries n'est pas indépendante de la nature du milieu nutritif

sur lequel elles se développent. Il en résulte des variations dans la colorabilité de l'élément bactérien. L'importance de ces variations augmente à mesure qu'on s'éloigne des conditions normales d'alimentation. Il y a là une cause d'erreur dont il faut tenir compte dans le diagnostic; encore ne faut-il pas exagérer son importance outre mesure. Ainsi certains auteurs prétendent que le *Staphylocoque* cultivé sur milieux « *humanisés* » peut perdre sa faculté de prendre le Gram. Pour vérifier le bien-fondé de cette assertion, nous avons effectué les expériences suivantes :

Staphylococcus aureus.

NATURE DU MILIEU NUTRITIF	VITESSE MOYENNE de décoloration des cultures agées de	
	24 heures	48 heures
Gélose bouillon.	40 minutes.	35 minutes.
Gélose ascite (2 + 1)	40 minutes.	40 minutes.
Gélose inclinée recouverte d'ascite.	35 minutes.	35 minutes.
Gélose sang	40 minutes.	40 minutes.

Qu'il s'agisse de culture de dix-huit heures, de quarante-huit heures ou de quatre jours, on n'observe pas de variation sensible dans la vitesse de décoloration des cultures effectuées sur les divers milieux. Les différences trouvées sont toujours de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences (1). Il est intéressant de rapprocher les vitesses de décoloration du *Staphylococcus aureus* de celles de différents Coccis, cultivés sur gélose bouillon (cultures de vingt-quatre heures).

	VITESSE de décoloration
<i>Staphylocoque doré</i>	40 minutes.
<i>Tetragène</i>	25 minutes.
<i>Enterocoque</i>	20 minutes.
<i>Sarcine orangée</i>	15 minutes.

Remarque I. — Décoloration par l'alcool-acétone.

Remarque II. — Les cultures sur gélose de l'*Enterocoque* (collection Institut Pasteur) renfermaient surtout des plastides arrondies.

(1) Dans cet essai, les cultures de vingt-quatre et quarante-huit heures offrent des vitesses de décoloration du même ordre. Pour obtenir des variations notables de vitesse, il faudrait opérer sur des cultures plus âgées.

Dans nos essais, le Staphylocoque doré a résisté plus longtemps que les autres Coccis à l'action du décolorant.

3° TEMPÉRATURE DE L'EAU DE LAVAGE. — Une faible élévation de température de l'eau de lavage influence peu la vitesse de décoloration. Pour rendre plus sensible l'action de la température, on opère de la façon suivante : les préparations sont colorées dans les conditions habituelles de temps, de température et de concentration, mais la décoloration n'est pas poussée jusqu'à sa limite.

Nous indiquons ci-dessous les résultats obtenus avec *B. mesentericus* (Lehmann) et *B. megatherium* (Ficker).

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION PAR L'EAU MAINTENUE A		
	50° C	17° C	4° C
<i>B. mesentericus</i> (Lehmann) .	3 minutes.	83 minutes.	> 180 minutes.
<i>B. megatherium</i> (Ficker) . .	3 minutes.	45 minutes.	> 90 minutes.

Remarque I. — Les préparations colorées ont séjourné six minutes dans l'alcool à 80°. Après ce laps de temps toutes les plastides étaient encore colorées en violet-noir. L'examen des nombres ci-dessus montre que l'élévation de température augmente le pouvoir décolorant de l'eau de lavage.

4° TEMPÉRATURE DU LIQUIDE DÉCOLORANT. — Dans la détermination des vitesses de décoloration, on ne peut pas négliger l'action de la température des liquides décolorants. Ce fait ressort nettement de l'expérience suivante (voir tableau page 562).

5° MORDANTS. — Gram (1884) n'a pas précisé les conditions d'emploi du mordant. L'auteur se contente de colorer une à trois minutes avec la solution anilinée d'Ehrlich-Weigert. Or, les prescriptions d'Ehrlich relatives à la préparation de l'eau anilinée sont très vagues (1).

En effet, l'aniline et l'eau ne sont pas miscibles en toutes proportions. Lorsque les quantités de liquides mis en présence

(1) L'aniline et l'acide phénique ne se comportent pas comme les mordants des teinturiers. Dans ce mémoire, nous avons pris le mot de mordant dans l'acception que lui donnait Unna.

dépassent certaines limites, le mélange se partage en deux couches : l'une riche en aniline et pauvre en eau, l'autre riche en eau et pauvre en aniline.

Action de la température des décolorants.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION	
	à 16° C	à 4° C
<i>B. pyocyaneus</i>	25 secondes.	70 secondes.
<i>B. chlororaphis</i>	19 secondes.	60 secondes.
<i>B. Le Monnieri</i>	27 secondes.	70 secondes.
<i>B. dysent.</i> Shiga (I. P.)	11 secondes.	40 secondes.
<i>B. dysent.</i> Flexner (I. P.)	9 secondes.	35 secondes.
	à 16° C	à 50° C
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel).	11 minutes.	5 secondes.
<i>B. m. fuscus</i> (Kral).	21 minutes.	105 secondes.

Remarque. — *B. subtilis* (Morez), *B. megatherium* (Ficker), *B. subtilis* (Lehmann) donnent des nombres intermédiaires entre ceux fournis par *B. mesentericus* (Fraenkel) et ceux obtenus avec *B. m. fuscus*.

Les nombres ci-dessus permettent d'établir un rapport entre les temps nécessaires à la décoloration effectuée à 16° C et ceux déterminés à 4° C. Dans nos expériences où la température croît de 12° C, le rapport varie entre 2,8 et 3,8. Nous savons qu'en général une élévation de 10° C rend la vitesse de réaction deux à trois fois plus grande (Vant' Hoff). Le coefficient de température observé dans la décoloration des plastides est donc analogue à celui des réactions chimiques.

En faisant varier la proportion d'aniline et d'eau, on obtient deux couches liquides de volume variable mais de composition constante si les mélanges ont été effectués à la même température T. Par contre, en élevant la température, la composition des deux couches se rapproche et pour une certaine température le liquide devient homogène.

Alexejeff (1896) a étudié avec soin les températures pour lesquelles les mélanges *aniline + eau* sont homogènes.

Pour obtenir des mélanges renfermant des quantités déterminées d'aniline, il faut donc tenir compte des températures et des proportions critiques.

Depuis les travaux de Unna (1888), et Nicolle (1895), l'acide phénique tend à remplacer l'aniline; aussi dirons-nous deux mots des solutions phéniquées.

Dans le mélange *eau* + *phénol cristallisé*, on observe les phénomènes décrits à propos de l'eau anilinée. Là encore il y a formation de deux couches liquides de composition différente. Mais au bout d'un certain temps le mélange devient homogène par suite de la formation d'un hydrate.

6° COLORANT. — a) *Nature du colorant*. — En 1875, Weigert conseilla l'emploi des couleurs d'aniline en microbiologie. Cette innovation fut assez heureuse pour que, deux ans plus tard, Koch puisse considérer les colorants artificiels « *comme des réactifs permettant de différencier les Bactéries...* ». Dès lors, un colorant préconisé par Weigert devait être adopté par tous les bactériologistes. Et Gram ne pouvait se dispenser d'employer le violet de gentiane dans ses recherches de 1884. D'ailleurs cet auteur tenta vainement d'utiliser la fuchsine et la rubine anilénées.

L'emploi du violet de gentiane offrant certains inconvénients, on a proposé de remplacer ce colorant par les substances suivantes :

Bleu Victoria B (Unna 1888); violet cristallisé (Kuhne 1887); violet de méthyle BB (Neide 1904); violet de méthyle BN et 6B (Loeffler 1905) violet de méthyle B (Eisenberg 1909), etc... Ces substitutions n'ont pas toujours été très heureuses; cela tient à la complexité des colorants commerciaux.

En introduisant des alcoyles dans les amidogènes de la pararosaniline, on obtient des matières colorantes violettes qui sont d'autant plus bleues que le nombre des atomes d'hydrogène remplacés est plus grand et que le poids moléculaire des alcoyles est plus considérable.

La substitution des groupes CH_3 donne des dérivés tri, tetra, penta, hexaméthylés dont la teinte bleue augmente du tri à l'hexaméthylpararosaniline.

Le violet d'éthyle est plus bleu que le violet de méthyle correspondant. De même en faisant réagir du chlorure de benzyle sur le violet de Paris (qui est surtout constitué par des dérivés penta-méthylés), il se forme une combinaison benzylée beaucoup plus bleue que le violet de Paris. Enfin, le remplacement d'un groupement phényle par un reste naphtyle conduit au bleu Victoria.

Les produits commerciaux sont en général des mélanges plus ou moins complexes (1). Le dérivé pentaméthylé domine dans le violet de gentiane. Les différentes marques de violets de méthyle (3R, R, B, 3B, 6B, etc.) renferment des quantités variables de tetra, penta et hexaméthylpararosanine. Par contre, le chlorhydrate et le chlorozincate du dérivé hexaméthylé cristallisent facilement. Il est donc possible d'obtenir des violets cristallisés ne renfermant qu'un seul colorant. Quoiqu'il en soit, on peut poser en principe qu'il est fort difficile d'expérimenter avec des produits qui soient toujours identiques à eux-mêmes. C'est là une cause de complications dans l'étude microscopique quantitative et c'est aussi la raison pour laquelle le microbiologiste ne doit commencer ses essais qu'après s'être procuré une quantité de colorant suffisante pour effectuer toutes ses recherches. La composition chimique du colorant n'est pas le seul facteur qui intervienne dans la coloration; il faut encore tenir compte de l'état sous lequel le colorant est utilisé.

b) *État de la solution.* — La préparation des liqueurs colorantes peut être ramenée aux deux schémas suivants :

1° On additionne une solution alcoolique concentrée de colorant à de l'eau anilinée ou phéniquée (Gram 1884, Unna 1888, Kuhne 1887, Nicolle 1895, etc...);

2° On triture le colorant avec de l'acide phénique et de l'alcool, puis on ajoute de l'eau distillée (Philibert, Eisenberg 1910, Langeron 1913).

On doit se contenter de solutions colorantes possédant un pouvoir tinctorial et une stabilité du même ordre mais non identiques. Dans le schéma n° 1, par exemple, les solutions diffèrent suivant que l'on ajoute l'eau à la solution concentrée ou la solution concentrée à l'eau. Elles varient encore avec la vitesse, le mode d'écoulement des liquides et la nature de l'agitation, etc. Nous retrouvons des inconvénients analogues dans le second mode de préparation.

Pour augmenter la stabilité et par suite la durée des solutions, Kutscher ajoute 33 p. 100 d'alcool à l'eau anilinée-phéniquée (2).

(1) Nous avons utilisé les produits : R. A. L.; Microcolor; GRUBLER; MEISTER LUCIUS et BRUNING.

(2) On augmente la durée de la solution en utilisant des mélanges alcool-glycérine, des colloïdes protecteurs ou des électrolytes convenables. Bou-

Mais on ne peut pas dépasser une certaine proportion d'alcool, sinon la matière colorante atteint la dispersion moléculaire ou ionique. Cet état de dispersion se traduit par une chute importante du pouvoir tinctorial. Tout se borne donc à obtenir une solution d'intensité colorante élevée et cependant d'assez grande stabilité. C'est un point sur lequel l'un de nous reviendra ultérieurement. Aujourd'hui, nous nous bornerons à l'étude de la *Schwebefällung* de Unna (1888).

Unna (1888) a montré que les bases précipitent les colorants basiques de leurs solutions. Lorsque l'on effectue un apport lent et ménagé d'ions OH, la précipitation n'est pas instantanée. L'addition de base se traduit tout d'abord par un changement de coloration. La solution devient plus claire; elle perd son éclat brillant et prend un reflet blanchâtre. A ce stade, la solution n'offre pas de précipité visible à l'œil nu; mais l'ultramicroscope décèle la présence d'un fin coagulum en suspension c'est la « *Schwebefällung* » de Unna, le *trouble naissant* des bactériologistes.

On peut réaliser l'apparition du « *coagulum naissant* » non seulement avec les bases, mais encore avec les eaux aniliné, phéniquée, thymolée, etc. En cessant l'apport de bases ou de phénol et en abandonnant le liquide colorant au repos, on voit se former peu à peu un fin précipité qui se dépose au fond du vase. En résumé, il y a un stade de transition entre la solution complète et la précipitation totale (1). Ce stade de transition serait le plus favorable à la coloration. D'où la nécessité d'utiliser dans la méthode de Gram des solutions présentant la *Schwebefällung*. Telles sont du moins les conclusions de Unna. Nous envisagerons le problème d'une façon un peu différente. Lorsque l'on utilise l'eau comme moyen de dispersion, les violets de pararosaniline donnent des solutions colloïdales dont les granules grossissent et évoluent vers la précipitation.

TARIC (1925) a décrit un phénomène curieux : « *c'est la protection qu'exerce l'addition d'un électrolyte en qualité très faible dans un colloïde contre la floculation produite par des doses plus fortes du même électrolyte* ». Il y a là une méthode nouvelle de stabilisation de certaines solutions colorantes.

(1) Ces conclusions valables pour les colorants violets de la pararosaniline ne peuvent pas être généralisées à tous les colorants basiques. UNNA considérerait la solution de WEIGERT (violet de gentiane aniliné) comme le type des solutions à *Schwebefällung*.

En général les petits grains se redissolvent, vont se reprécipiter sur les noyaux plus gros (action de tension superficielle) et arrivent ainsi à constituer le dépôt à grains grossiers des flacons de conserve. La vitesse d'évolution des solutions colorantes peut être augmentée ou diminuée par addition de substances convenables (corps coagulants ou corps protecteurs).

Lorsque l'on effectue un apport ménagé de substances coagulantes dans une solution colorante, il y a tout d'abord un temps mort durant lequel le phénomène de coagulation n'est perceptible ni à l'œil nu, ni au microscope. Puis les granules s'accroissent par deux ou trois ou quatre. A ce stade, le colloïde est incontestablement coagulé bien que ni le microscope ordinaire, ni l'œil nu ne puissent déceler de modification dans cette liqueur colorée. Mais les agglomérats augmentent bientôt de taille et on arrive enfin au dépôt de matière colorante. Cette précipitation entraîne une perte plus ou moins importante du pouvoir tinctorial.

La durée des solutions colorantes varie aussi avec la nature des vases utilisés. Dans les récipients en porcelaine, la précipitation est beaucoup plus rapide que dans les vases en verre (Unna 1888). Tous les verres ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis de l'eau. Certains sont facilement attaqués par ce liquide (Lasseur, 1924; Boutaric 1925), et de ce fait sont impropres à la préparation ou à la conservation des solutions colorantes.

Ces considérations générales étant établies, nous allons examiner comment, dans nos expériences, la nature de la solution colorante a modifié la vitesse de décoloration.

L'examen des tableaux montre qu'il est indispensable : 1° d'employer toujours le même colorant; 2° de préparer les solutions par la même technique; 3° d'utiliser des solutions neuves et de préparations récentes. C'est à ces conditions que l'on obtiendra des valeurs comparables.

7° DÉPLACEMENT ET COLORATION DE CONTRASTE. — Un colorant C_1 fixé sur un tissu T peut être déplacé par un colorant C_2 . Ce principe introduit en microbiologie par Weigert (1881) a été appliqué par Koch (1882) à la recherche du Bacille tuberculeux. Dans la méthode de Gram, la coloration de contraste facilite

Action de la nature du colorant.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION		
	Violet cristallisé (en secondes)	Violet de méthyle B (en secondes)	Violet de gentiane (en secondes)
	(1)	(2)	(3)
<i>B. typhosus</i>	2	2	6
<i>B. dysent.</i> Shiga	2	2	6
<i>B. dysent.</i> Flexner	3	3	7
<i>V. Cholerae</i>	3	3	3
<i>B. pyocyaneus</i>	3	3	11
<i>B. chlororaphis</i>	4	4	11
<i>B. Le Monnieri</i>	5	5	16
	(en minutes)	(en minutes)	(en minutes)
<i>B. mesentericus</i> (Lehmann) . . .	39	39	72
<i>B. subtilis</i> (Morez-Courmont) . .	42	42	100
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel) . . .	55	55	76
<i>B. m. fuscus</i> (Kral)	180	190	225
<i>B. megatherium</i> (Ficker)	175	175	235

Remarque I. — Les trois solutions renferment : 1 gramme de colorant; 2 gr. d'acide phénique; 10 cent. cubes d'alcool; quantité suffisante d'eau pour 100 cent. cubes.

Remarque II. — Température des réactifs, 17° C; coloration, deux minutes; lugol, deux minutes; décolorant, alcool-acétone pour les germes asporogènes, alcool à 80° pour les Bactéries sporogènes.

Action de la concentration et de l'âge des solutions colorantes.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION avec les solutions de violet cristallisé		
	Ancienne (1) C = 0 gr. 570 p. 100	Récente (2) C = 0 gr. 710 p. 100	Récente (3) C = 1 gramme p. 100
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel) . . .	15 minutes.	52 minutes.	55 minutes.
<i>B. m. fuscus</i> (Kral)	20 minutes.	40 minutes.	190 minutes.

Remarque I. — La solution (1) offre un précipité assez abondant. Les solutions (2) et (3) ne présentent pas de précipité.

Remarque II. — Température des réactifs, 17° C; décolorant, alcool à 80°.

Action de l'âge des solutions colorantes
(expérience effectuée sur *Staphylococcus aureus*).

	VITESSE de décoloration
Solution âgée de 24 heures.	60 minutes.
Solution âgée de 15 jours	40 minutes.
Solution ayant déjà été utilisée.	20 minutes.

l'examen microscopique; mais les complications dues au phénomène de déplacement peuvent donner lieu à de graves erreurs qui avaient été signalées par A. Hogge (en 1893). Depuis cette époque, quelques auteurs ont attiré l'attention sur ce point particulier (1). L'expérience suivante effectuée sur *Staphylococcus aureus* rend assez bien compte du phénomène de déplacement.

Staphylococcus aureus.

Temps de contact : violet cristallisé, deux minutes; lugol, deux minutes; alcool-acétone, six minutes; eau, deux minutes; solutions aqueuses de fuchsine à différentes concentrations, une minute.

CONCENTRATION des solutions de fuchsine en grammes par litre	EXAMEN MICROSCOPIQUE
0,500	Plastides rouges (rouge clair à rouge foncé), 100 p. 100.
0,125	Plastides uniformément rouges et plastides rouges à grains noirs, 100 p. 100.
0,0625	Plastides uniformément rouges et plastides rouges à grains noirs, 20 p. 100; plastides violet-noir, 80 p. 100.
0,03125	Plastides roses, 5 p. 100; plastides violet-noir, 95 p. 100.
Témoin.	Plastides violet-noir, 95 p. 100; plastides gris clair violacé, 5 p. 100.

Dans les solutions de fuchsine très concentrées, toutes les plastides sont rouges. Tandis qu'aux faibles concentrations (0 gr. 031), 5 p. 100 seulement des éléments bactériens sont colorés en rose, 95 p. 100 restent violet-noir.

Comparons ces dernières préparations aux préparations témoins. Nous constatons que les plastides qui se sont colorés en rose par la fuchsine à (0 gr. 031) sont celles qui ont atteint le stade de décoloration par l'alcool acétone. Les plastides qui ont résisté à l'action du décolorant ont bien absorbé un peu de fuchsine; mais le colorant légèrement fixé est éliminé en entier par le lavage ultérieur.

A la concentration de 0 gr. 062, 20 p. 100 des plastides sont colorés en rouge. Sur ce nombre 5 p. 100 sont uniformément rouges, 15 p. 100 montrent des grains violet-noir tranchant sur

(1) On a proposé comme coloration de contraste : le brun de Bismark (GRAM, KISKALT, 1904); l'éosine et la fuchsine diluée (M. NICOLLE, 1895); la safranine (R. W. ALBERT, 1901).

le fond rouge de la plastide. Cette double coloration s'explique par la présence d'îlots retenant le colorant violet-noir d'une façon plus énergique que le reste de la plastide. Ce déplacement s'accroît avec l'augmentation de la teneur en fuchsine. Pour les fortes concentrations, toutes les plastides sont colorées en rouge, mais la nuance varie du rouge clair au rouge violacé.

Nous arrivons ainsi aux teintes signalées par Giscard (1923) dans son excellent travail sur le Gonocoque. Contrairement à cet auteur, nous estimons qu'il est très facile d'éviter la « *résultante rouge violacé* » (p. 201) dans la réaction de Gram. Il suffit pour cela d'agir sur la décoloration ou la coloration de contraste. En effet, l'obtention d'un cytoplasme coloré en rose d'où émergent des grains violet-noir n'offre aucune difficulté.

Cette image, nous l'avons observée avec le Staphylocoque, nous la retrouvons avec les Bactéries du groupe *subtilis-mesentericus-megatherium*. Elle est même constante lorsque l'on opère avec des cultures assez âgées. Enfin, R. et W. Albert (1901), R. Trommsdorff (1902) ont décrit chez les Levures des phénomènes identiques à ceux que nous venons d'esquisser chez les Bactéries.

8° SOLUTION IODÉE. — La vitesse de la décoloration est fonction, non seulement du colorant, mais encore de la solution iodée. Gram n'employait que la solution iodo-iodurée, la teinture d'iode et la solution d'iodure de potassium lui ayant toujours donné de mauvais résultats. On a tenté d'expliquer les différences d'action des solutions iodées en faisant intervenir la notion d'atomicité. Dans la solution iodo-iodurée, l'iode (1) est triatomique tandis qu'il est monoatomique dans IK. On pouvait donc en première approximation attribuer à I³ des propriétés différentes de celles de I. Mais Unna (1888) a obtenu de magnifiques préparations avec l'iode naissant (2).

De même certains auteurs auraient substitué avec succès les vapeurs d'iode à la solution de Lugol (3). Or dans cette expé-

(1) Au moins une partie. Il faut bien reconnaître qu'il s'agit là d'une hypothèse vraisemblable mais rien de plus.

(2) Action de H²O² sur IK; pour être certain que H²O² n'agit pas dans la réaction il faudrait utiliser des liqueurs titrées.

(3) Nous n'avons jamais obtenu de bons résultats avec les vapeurs d'iode.

rience l'iode est à l'état de I^2 . Par suite, il devient impossible de donner une explication simple du phénomène signalé par Gram.

Quoi qu'il en soit des théories, rappelons que Nicolle (1895) a utilisé, lui aussi, des solutions iodo-iodurées, mais de plus fortes concentrations que celles préconisées par Gram (1).

Dans une étude systématique de la réaction de Gram, Neide a montré que l'action de la solution iodo-iodurée est fonction de la concentration, de la température et du temps de contact.

Pour vérifier le bien-fondé de cette hypothèse, nous avons institué l'expérience suivante :

Action de la concentration des solutions iodo-iodurées.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION		
	Solution C	Solution 5 C	Solution 10 C
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel) . . .	17 minutes.	40 minutes.	55 minutes.
<i>B. mesentericus fuscus</i> (Kral) . .	25 minutes.	55 minutes.	75 minutes.
<i>B. mesentericus</i> (Lehmann) . . .	17 minutes.	40 minutes.	30 minutes.
Remarque. — La solution C renferme : iode, 1 gramme; IK, 2 grammes; eau, 300 grammes.			

La vitesse de décoloration est, dans une certaine limite, fonction de la concentration en iode. L'accroissement de résistance à la décoloration est surtout sensible chez les germes à lente décoloration. Avec les Bactéries de faible résistance (*ne prenant pas le GRAM*) le retard de la décoloration est de l'ordre des erreurs expérimentales. Il n'en est plus de même si l'on combine l'action du temps de contact et celle de la température. Ce fait a été mis en évidence dans l'expérience suivante :

Bacille pyocyanique. Var. pyocyanogène.

SÉJOUR dans la solution iodo-iodurée	VITESSE de décoloration
1 heure	5 secondes.
4 heures.	20 secondes.
24 heures.	20 secondes.

(1) On a tenté de remplacer l'iode par le brome (EISENBERG, 1910; GUERBET, MAYER, et SCHAEFFER, 1910) et par l'acide picrique (CLAUDIUS, 1897).

Bacille pyocyanique. Var. pyocyanogène.

(Coloration : deux minutes, puis séjour de quatre minutes dans les solutions iodurées.)

TEMPÉRATURE de la solution iodo-iodurée	VITESSE de décoloration
37° C	15 secondes.
51° C	55 secondes.
58° C	180 secondes.
74° C	240 secondes.
Ebullition.	410 secondes.

Remarque. — Le Bacille typique se comporte sensiblement comme le Bacille pyocyanique. Dans les deux cas, on observe une décoloration irrégulière de la plastide.

En résumé, en prolongeant le séjour de la préparation dans la solution iodée et en élevant la température de cette dernière on peut retarder la décoloration.

Tel est aussi l'avis de Neide (1904) et Eisenberg (1910). Mais ces auteurs n'ont pas attaché d'importance à l'empâtément des plastides sous l'action des solutions iodées. On obtient de bien meilleurs résultats en exaltant non seulement l'action de l'iode, mais encore celle du colorant. Pour cela, on colore au violet phéniqué pendant quatre minutes à 60-70° C. Puis, pendant le même laps de temps, on fait agir l'iode à la température de 58-60° C.

9° DÉCOLORANT. — Gram (1884) décolorait puis éclaircissait les préparations par passages successifs dans l'alcool absolu et dans l'huile d'œillette. Dans certains cas, le savant danois utilisait l'alcool chlorhydrique (1) ou nitrique à 3 p. 100.

Le mélange alcool-acide minéral est un décolorant brutal, d'emploi très limité. Il en est de même du traitement des préparations par un acide minéral (HNO_3 ou H_2SO_4 , 3 p. 100) et par l'alcool absolu (Löffler, 1906). Par contre l'alcool-acétone, préconisé par M. Nicolle (1895 et 1902), est d'un usage courant.

L'alcool-acétone a un pouvoir décolorant intermédiaire entre celui de l'alcool absolu et celui de l'alcool acide. L'action décolorante des solutions alcooliques varie, non seulement avec leur richesse en alcool, mais encore avec les Bactéries consi-

(1) Gunther n'est donc pas le premier auteur qui ait employé l'alcool chlorhydrique.

dérées. Neide (1904) a montré que différentes Bactéries sporogènes sont décolorées beaucoup plus rapidement par l'alcool à 80° que par l'alcool absolu.

Kuhne (1886) a préconisé une méthode générale de décoloration basée sur l'emploi de solutions alcooliques de colorants acides, tels que la fluorescéine, l'éosine, etc. L'auteur réalise du même coup la décoloration et la coloration de contraste. Après décoloration par la solution alcoolique de fluorescéine, Kuhne, dans certains cas, décolore à nouveau par l'alcool. En utilisant l'huile d'aniline colorée par l'auramine, la safranine, Paltauf (1892) s'est évidemment inspiré des travaux de Kuhne.

Les diverses préoccupations des différents auteurs nous valent cette multiplicité d'agents décolorants. Il nous a paru intéressant de reprendre l'étude systématique de la décoloration. Les résultats que nous avons obtenus sont consignés dans les tableaux suivants.

Dans tous ces essais, nous avons opéré sur des cultures (gélose bouillon) de quarante-huit heures. Les cultures ont été effectuées à 37° C, sauf celles de *B. chlororaphis* et *B. Le Monnieri*, ces deux germes ayant toujours été cultivés à 30° C.

Coloration : deux minutes ; Lugol : deux minutes.

Action de l'alcool-acétone, de l'alcool absolu, de l'alcool à 80° sur les Bactéries asporogènes.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION		
	Alcool-acétone Alcool : 2 p. Acétone : 2 p.	Alcool absolu	Alcool à 80°
	I	II	III
<i>B. typhosus</i>	2 secondes.	9 secondes.	18 secondes.
<i>B. dysent. Shiga</i>	2 secondes.	9 secondes.	11 secondes.
<i>B. pyocyaneus</i>	3 secondes.	9 secondes.	25 secondes.
<i>B. chlororaphis</i>	4 secondes.	9 secondes.	19 secondes.
<i>B. Le Monnieri</i>	5 secondes.	10 secondes.	27 secondes.
<i>B. dysent. Flexner</i>	3 secondes.	6 secondes.	9 secondes.

Remarque. — Dans ce tableau nous n'avons pas fait figurer les valeurs obtenues : 1° avec l'alcool à 95°; 2° avec le mélange alcool 80° + acétone.

Le mélange alcool à 80°, 2 p. + acétone, 1 p., donne des

nombres intermédiaires entre ceux de la colonne I et ceux de la colonne II. L'alcool à 95° fournit des valeurs identiques ou voisines de celles obtenues avec l'alcool absolu.

L'examen du tableau ci-dessus montre que : 1° l'alcool-acétone décolore plus rapidement les germes dits *Gram négatifs* que l'alcool absolu ou que l'alcool à 80° ; 2° l'alcool-acétone est incapable de déceler des différences sensibles entre les diverses Bactéries expérimentées, tandis que l'alcool à 80° sépare les Bacilles dysentériques des germes fluorescents et rapproche *B. Le Monnier* de *B. pyocyaneus*.

Action de l'alcool à 80°, de l'alcool-acétone, de l'alcool absolu sur les Bactéries du groupe *subtilis-mesentericus-megatherium*.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION		
	Alcool à 80°	Alcool-acétone Alcool à 95° : 2 p. Acétone : 1 p.	Alcool absolu
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel) . . .	11 minutes.	50 minutes.	90
<i>B. megatherium</i> (Ficker) . . .	55 minutes.	65 minutes.	75
<i>B. m. fuscus</i> (Kral)	21 minutes.	117 minutes.	125
<i>B. mesentericus</i> (Lehmann) . . .	15 minutes.	185 minutes.	228

Remarque I. — Avec le mélange alcool à 80°, deux parties + acétone, une partie, on obtient des nombres intermédiaires entre ceux que donne l'alcool à 80° et ceux qui sont fournis par le mélange alcool à 95° + acétone. L'alcool à 95° se comporte à peu près comme l'alcool absolu.

Remarque II. — Température des réactifs, 18° C; coloration avec une solution de violet cristallisé de concentration C, 0 gr. 500.

L'étude des valeurs ci-dessus montre que l'alcool à 80° décolore les Bactéries sporogènes plus rapidement que l'alcool absolu et que l'alcool-acétone. En résumé, certaines Bactéries sont décolorées plus lentement par l'alcool-acétone que par l'alcool absolu. Pour d'autres micro-organismes, on observe le phénomène inverse. Il n'existe donc pas de décolorant universel.

Les vitesses de décoloration obtenues dans les expériences précédentes sont trop voisines (à quelques exceptions près) pour que l'on puisse songer à les utiliser dans l'identification des germes. Convaincus cependant que toutes les Bactéries ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis du colorant

violet-noir, nous avons institué de nouvelles expériences dont nous consignons les résultats dans les tableaux ci-dessous.

Action de l'acide acétique 5 p. 100, et de l'alcool amylique sur les Bactéries asporogènes.

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION	
	Solution d'acide acétique à 5 p. 100	Alcool amylique
<i>B. typhosus</i>	12 min. 30 sec.	3 minutes.
<i>B. dysent.</i> Flexner.	6 minutes.	5 min. 40 sec.
<i>B. dysent.</i> Shiga.	24 minutes.	28 minutes.
<i>V. Cholerae</i>	14 minutes.	0 min. 45 sec.
<i>B. pyocyaneus</i>	12 minutes.	4 min. 45 sec.
<i>B. chlororaphis</i>	22 minutes.	7 min. 45 sec.
<i>B. Le Monnieri</i>	> 24 heures.	5 min. 15 sec.

Remarque I. — Coloration avec une solution de violet cristallisé de concentration C, 0 gr. 75; température des réactifs, 18° C.

Remarque II. — Avec l'acide acétique on n'observe pas les teintes de passage obtenues avec l'alcool-acétone ou l'alcool. Par contre la décoloration est fortement influencée par l'irrégularité d'épaisseur des préparations. Avec l'alcool amylique les préparations sont très belles; mais il est indispensable d'agiter les préparations pendant tout leur séjour dans le décolorant.

Action de l'acide chlorhydrique (10 p. 100 de HCl) sur les Bactéries du groupe *subtilis-mesentericus-megatherium* (1).

DÉSIGNATION DES BACTÉRIES	VITESSE DE DÉCOLORATION
<i>B. mesentericus</i> (Fraenkel).	3 secondes.
<i>B. megatherium</i> (Ficker).	5 secondes.
<i>B. m. fuscus</i> (Kral).	3 secondes.
<i>B. mesentericus</i> (Lehmann)	125 secondes.
<i>B. subtilis</i> (Morez, Courmont).	5 secondes.

Action de l'alcool (à 80°) + acide lactique. — L'alcool à 80° étant le meilleur décolorant pour les Bactéries du groupe *subtilis-mesentericus-megatherium*, nous avons additionné l'alcool à 80° de quantité croissante d'acide lactique. Nos essais ont porté sur des solutions alcooliques renfermant 0,5, 1, 2, 3, 5 p. 100 d'acide lactique. L'addition d'acide lactique augmente la vitesse de décoloration de l'alcool, mais tous les germes paraissent se comporter de la même façon vis-à-vis de ces solutions acides.

Il résulte de la lecture de ces tableaux :

1° Que la vitesse de décoloration de *B. Le Monnieri* par

(1) Les solutions à 0,5, 1, 2, 3, 5 p. 100 ne fournissent aucun renseignement intéressant.

l'acide acétique 5 p. 100 est 60 fois plus grande que celle des autres germes expérimentés;

2° Que le Bacille dysentérique de Shiga résiste 20 fois plus que le Vibron cholérique à l'action de l'alcool amylique;

3° Que *B. mesentericus* (souche Lehmann) se différencie des germes voisins par sa résistance à l'alcool chlorhydrique. Cette résistance est 25-40 fois plus grande que celle des autres Bactéries du groupe *subtilis-mesentericus*.

En modifiant la réaction de Gram et en faisant intervenir la notion de vitesse de décoloration, il est donc possible de différencier des germes qui se comportent de la même façon dans la méthode primitive. On obtient des résultats analogues en remplaçant l'iode par des électrolytes convenables (1).

En résumé, l'étude quantitative des réactions colorantes permet de déceler chez les Bactéries des différences de colorabilité qui passent inaperçues dans la méthode qualitative.

Nous n'avons pas la prétention de définir une espèce par un caractère : « Nul caractère ne suffit quand il est envisagé individuellement, sans égard à ses connexions avec les autres ou à son origine » (P. Vuillemin, 1913). Mais nous estimons que les caractères utilisés par les bactériologistes peuvent être insuffisants pour définir une espèce. La lecture de la classification américaine en fournit la preuve irréfutable. Il est donc nécessaire d'augmenter la valeur de certains caractères en procédant à leur étude quantitative.

(Travail du Laboratoire de Microbiologie
de la Faculté de Pharmacie de Nancy.)

(1) A notre instigation, M. Coudray étudie la réaction de Gottstein au point de vue quantitatif.

L'INDICANÉMIE DES NÉPHRÉTIQUES ET LA NÉPHRITE EXPÉRIMENTALE PAR L'INDOL,

par M. Alexandre G. PHOCAS
Professeur agrégé de Chimie biologique
à l'Université d'Athènes.

Il y a déjà quelques années que j'avais remarqué, d'abord accidentellement, une augmentation de l'indican urinaire chez les néphrétiques. Cette augmentation, qui ne pouvait pas s'expliquer par des désordres d'origine intestinale, je l'ai cherchée depuis systématiquement et je l'ai constatée surtout dans les urines claires et légères provenant de néphrites chroniques urémigènes.

L'indican étant un produit de neutralisation de l'indol par les ions sulfuriques, j'ai pensé que peut-être l'indol d'origine intestinale ou encore hématique, par transformation du noyau pyrrolique de l'hématine, pourrait peut-être jouer un rôle toxique qui amènerait l'apparition de certaines néphrites, toutes les fois que par suite d'une production abondante (*b. coli*, etc.) ou peut-être à cause d'une insuffisance en ions sulfuriques ou encore à cause d'une insuffisance hépatique il se trouve en excès, et j'ai commencé à chercher, en dehors de l'indican, l'indol libre dans les urines.

L'indol libre, que je cherchais dans l'extrait éthéré de 300 cent. cubes d'urine, je l'ai trouvé presque aussi souvent que l'indican, mais pas toujours en même temps que ce dernier.

Dans le but de faciliter chez les néphrétiques la transformation de l'indol en indican j'avais prié quelques cliniciens de mes amis d'administrer du sulfate de soude (3 grammes par jour) toutes les fois qu'ils constateraient la présence de l'indol libre ou une augmentation de l'indican dans les urines des néphrétiques.

L'influence du sulfate de soude fut, paraît-il, pour la plupart satisfaisante, mais, malheureusement, j'ai pu rarement suivre

moi-même ces malades. J'aurai toutefois à noter le cas d'un jeune malade de quatorze ans soigné à l'hôpital français d'Athènes et qui souffrait d'une néphrite chronique depuis deux ans avec 0,50 p. 100 d'albumine, 1 gramme d'urée sanguine, pression de 18 centimètres (Pachon) et qui avait une augmentation de l'indican urinaire en même temps que des traces d'indol libre dans les urines. Le professeur Bensis, qui soignait le malade, a bien voulu lui administrer du sulfate de soude. L'indican, que je dosais colorimétriquement, avait augmenté dès le deuxième jour. Il avait diminué le septième et l'indol libre avait disparu. Un mois après, le malade sortait de l'hôpital avec des traces d'albumine, pression maximum 15 centimètres et 0,40 p. 1.000 d'urée dans le sang. Trois mois plus tard, l'albumine a totalement disparu et le malade complètement guéri a repris son travail d'ouvrier.

Ce résultat, qui déjà date de quatre ans, et encore quelques-uns plus ou moins satisfaisants, m'ont poussé à examiner l'influence de l'administration chronique de l'indol, dans le but de provoquer si possible une néphrite expérimentale.

Expériences sur des lapins.

Les expériences ont été faites sur 4 lapins.

LAPIN 1. — Je lui donnais 10 cent. cubes d'une solution d'indol (provenant de la maison E. Merk) à 0,10 p. 100, c'est-à-dire 0 gr. 01 par jour, en introduisant la solution dans son estomac par une sonde flexible.

Le lapin émettait dès le lendemain de l'indican, ainsi que de l'acide glucuronique (examiné par la naphtorésorcine) en quantité notable.

Le huitième jour il a présenté des traces d'albumine dans ses urines, l'indicanurie et l'émission de l'acide glucuronique furent constantes.

L'animal est mort trente jours après, pendant la nuit, après avoir présenté des signes de faiblesse le dernier jour. Plusieurs heures s'étant écoulées entre la mort et le moment que je l'ai aperçue, j'ai cru inutile l'examen anatomopathologique de ce lapin.

LAPIN 2. — Je lui administrais la même quantité d'indol par jour.

L'animal a présenté de l'albumine dans ses urines le dixième jour. L'indicanurie et la glucuronurie furent abondantes dès le troisième jour, auquel j'avais examiné les urines pour la première fois.

Le lapin est mort le cinquantième jour après avoir marqué de la lassitude la veille de sa mort.

A l'ouverture de l'animal j'ai remarqué une hémorragie abondante avec rupture du ventricule gauche du cœur.

Les reins examinés par M. le professeur J. Catsaras présentent les altérations suivantes :

Des altérations parenchymateuses caractérisées par une nécrose des épithéliums des tubes, surtout dans les branches ascendantes des anses de Henle. Les noyaux, dans la plupart de ces épithéliums, ont disparu et le protoplasme se présente sous la forme d'une masse amorphe remplissant la

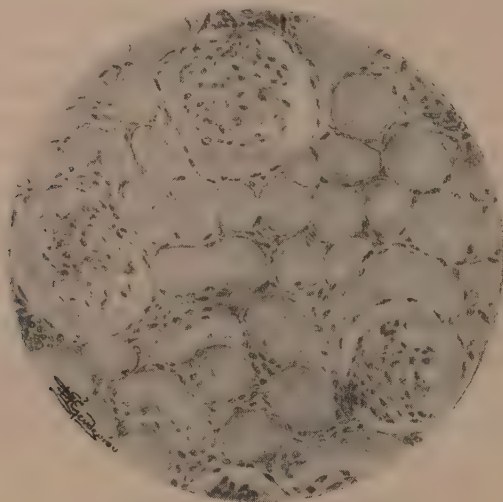


FIG. 1.

lumière des tubes qui souvent a totalement disparu. La branche descendante ne présente pas d'altérations. Les glomérules de Malpighi sont aussi altérés. Chez certains d'entre eux on remarque une tuméfaction du peloton qui remplit totalement la capsule. Ailleurs le peloton est repoussé par une substance albuminoïde solidifiée.

En dehors de ces altérations on remarque aussi des infiltrations du tissu interstitiel (Fig. 1).

LAPIN 3. — Au commencement je lui donnais la même quantité d'indol par jour. Chez ce lapin, qui paraissait plus résistant, l'albuminurie est apparue un peu plus tard, le quinzième jour. L'indicanurie et la glucuronurie dès le lendemain.

Après le trentième jour j'ai augmenté la quantité de l'indol à 0,02 par jour. J'ai tué ce lapin trois mois après par section de la carotide.

Dans son sang, examiné par l'hypobromite, j'ai trouvé 0,40 p. 100 d'urée. A l'examen anatomopathologique les reins présentent moins de lésions de l'épithélium des tubes, il y a exsudation trouble qui parfois arrive jusqu'à faire disparaître la lumière. Les noyaux des cellules ne sont pas uniformément colorés : certains d'entre eux sont foncés, d'autres beaucoup plus clairs.

Le peloton des glomérules de Malpighi est hyperhémique. Dans quelques-uns de ces glomérules on remarque à l'intérieur de la gaine de Baumann une petite quantité de substance albuminoïde.

Le cœur de ce lapin présentait les lésions suivantes :

Les cavités sont très dilatées et leur consistance est molle. Dans les fibres musculaires les stries ont presque totalement disparu et les noyaux des

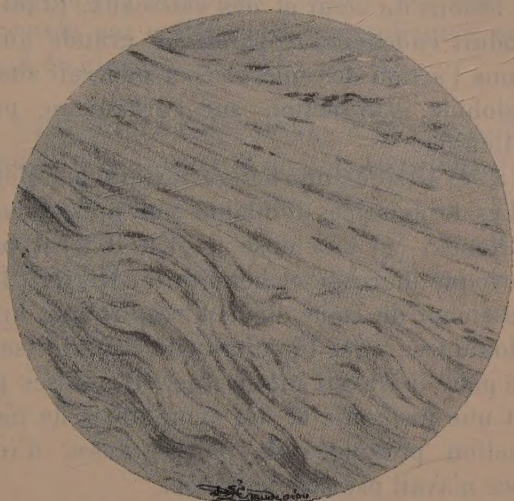


FIG. 2.

fibres sont faiblement colorés. Les vaisseaux capillaires sont dilatés et hyperhémiques (Fig. 2).

LAPIN 4. — A ce lapin aussi j'ai augmenté la dose de l'indol après le trentième jour à 0,02 par jour. Je l'ai tué en même temps que le précédent par section de la carotide.

Son sang contenait 0,80 p. 100 d'urée examinée par l'hypobromite. Les reins présentent des lésions du même ordre que les précédentes. Les épithéliums des tubes sont enflés parfois jusqu'à la disparition de la lumière. On remarque des foyers de dégénérescence surtout dans les couches superficielles de la substance corticale. On remarque aussi une tendance vers une exquamation épithéliale.

Les glomérules de Malpighi sont enflés, hyperhémiques. Certains d'entre eux présentent une substance albuminoïde à l'intérieur de la gaine de Baumann.

Les lésions du cœur sont moins accusées. Dans les fibres musculaires les stries ne sont pas claires. Les noyaux ne sont pas uniformément colorés, les vaisseaux sont dilatés, hyperhémiques.

CONCLUSIONS.

De ce travail expérimental on peut conclure que de petites doses d'indol, par elles-mêmes inoffensives, peuvent à la longue intoxiquer le lapin et provoquer chez lui une néphrite chronique avec lésions du cœur et des vaisseaux. Etant donné que l'indol, produit endogène, apparaît en grande quantité dans l'intestin sous l'action des microbes et pourrait aussi provenir de l'hémoglobine, son action sur l'organisme présente un intérêt particulier.

A l'indol a été attribué une action toxique par Metchnikoff et son école. Les doses isolées d'indol ne sont presque pas toxiques.

D'après Nencki (1) à la dose de 1,0 il n'est pas toxique. A 2,0 il provoque diarrhée et hématurie. Herter (2) a constaté un affaiblissement du cœur et de la respiration, ainsi que des spasmes cloniques; chez l'homme, de l'affaiblissement et de l'incapacité pour le travail intellectuel. Des doses plus élevées provoquent une insomnie et des symptômes de neurasthénie.

Mais l'action prolongée de petites doses d'indol à ma connaissance n'avait pas été examinée.

V. Haas (1915) et Rosemberg (1920) ont bien remarqué une augmentation de l'indican dans le sang de certains néphrétiques, mais cette augmentation de l'indican fut attribuée à une insuffisance du rein et considérée comme en quelque sorte analogue à l'augmentation de l'urée sanguine. Or, l'indican est un produit de neutralisation de l'indol par les ions sulfuriques, au même titre que la combinaison de l'indol avec l'acide glucuronique.

En outre, si l'augmentation de l'indican sanguin traduisait tout simplement une insuffisance néphrétique, il y aurait diminution correspondante de l'indican urinaire. Et c'est le contraire qui arrive. Mon point de départ fut précisément l'augmentation de l'indican que j'avais remarqué dans les urines de néphrétiques. Et chez les lapins, après l'ingestion de l'indol, l'indican urinaire ainsi que l'acide glucuronique sont éliminés en abondance par les urines.

(1) Cité par S. Fränkel : *Arzneimittelsynthese*.

(2) Cité par S. Fränkel : *Arzneimittelsynthese* et *New York Med. Journal*, 1898.

Sans nier que la néphrite, une fois installée, pourrait provoquer une rétention de l'indican, j'estime que l'indicanémie est due surtout à une production abondante de l'indol et que c'est l'indol qui, toutes les fois qu'il se produit en abondance ou qu'il n'est pas suffisamment neutralisé, pourrait à la longue provoquer une des formes de la néphrite chronique. Et c'est dans cette idée que j'ai proposé l'emploi des ions sulfuriques (sulfate de soude par petites doses quotidiennes ou limonade sulfurique) et du glucose.

*(Travail du Laboratoire de Pharmacologie
de l'Université d'Athènes et de l'Institut Pasteur d'Athènes.)*

Le Gérant : G. MASSON.

